



T.C
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PEDİATRİ ANABİLİM DALI

DİSHORMONOGENEZLİ KONJENİTAL HİPOTİRODİ HASTALARINDA
YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ İLE GENETİK ETİYOLOJİ DEĞERLENDİRİLMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. Ümran POTA

Ağustos 2023
DENİZLİ

**DİSHORMONOGENEZLİ KONJENİTAL HİPOTİRODİ HASTALARINDA
YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ İLE GENETİK ETİYOLOJİ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıpta Uzmanlık Tezi
Pediatri Anabilim Dalı
Pediatrik Endokrinoloji Hastalıkları**

Dr. Ümran POTA

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SELDA AYÇA ALTINCIK

Araştırma Pamukkale Üniversitesi Girişimsel olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu komitesince 14.01.2022 tarihinde 192.168.173.10 karar numarası ile kabul edildi.

Ağustos 2023

DENİZLİ

“Dishormonogenezli konjenital hipotirodi hastalarında yeni nesil dizi analizi ile genetik etiyoloji değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışması 03/08/2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN	PROF. DR. SELDA AYÇA ALTINCIK	İmza:
ÜYE	PROF. DR. ÖZMERT M.A. ÖZDEMİR	İmza:
ÜYE	DOÇ. DR. BAYRAM ÖZHAN	İmza:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. 03/08/2023.

Prof. Dr. _Osman İsmail
ÖZDEL
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bu tez çalıŐması sűresince desteğini benden esirgemeyen danıŐmanım sayın **Prof. Dr. Selda Ayça Altıncık 'a**

Pediyatrik Endokrinoloji Bilim Dalı ğretim űyesi sayın, **Doç. Dr. Bayram Őzhan' a**

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ğretim űyesi **Prof. Dr. Gökhan Ozan etin' e**

Eęitimime katkıda bulunan tűm saygıdeęer **hocalarıma**

Hastalara ulaŐmamda ve gerekli olan materyalin toplanmasında yardımcı olan pediyatrik endokrinoloji **Uzm. Dr. Didem Yıldırım akar ve Uzm. Dr. Murat Őcal'a**

Blűműműzde maddi, manevi desteklerini benden esirgemeyen tűm **alıŐma arkadaŐlarıma,**

Her zaman yanımda olan canım **aileme,** teŐekkűrű bir borç bilirim.

ÖZET

Hipotiroidi, hipotalamus-hipofiz-tiroid bezi aksında herhangi bir sorun nedenli tiroid bezi tarafından yetersiz tiroid hormonu üretilmesi olarak tanımlanır. Konjenital ya da edinsel olabilir. Konjenital hipotiroidi yenidoğan döneminde en sık görülen endokrin bozukluk olup önlenebilir mental retardasyonun en önemli sebeplerindedir. Geçici (%40-50) veya kalıcı (%50-60) olarak görülebilir. İyot eksikliği veya fazlalığı, annenin otoimmün tiroid hastalıkları, annenin antitiroid ilaç kullanımı veya yenidoğan dönemi kullanılan bazı ilaçlara bağlı olarak geçici hipotiroidi nedenleri arasındadır. Kalıcı hipotroidiler ise tiroid bezinin disgenезileri (%60) veya dishormonogenez (%40), hipotalamohipofizer nedenlere bağlı sekonder veya santral hipotiroidi ve tiroid hormonlarının transport /metabolizma defektlerine bağlı olarak görülebilir.

Doğumsal hipotiroidin insidansı 1/4000 olarak bilinmektedir ancak son yıllarda görülme sıklığında artış olduğuna dair yayınlar mevcut olup, güncel insidansı 1/2000 olarak bildirilmiştir. Vaka sayısındaki artışın etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Endokrin bozucu ajanlar, hipotiroidi tarama testinde kullanılan tirotropin (TSH) eşik değerinin düşürülmüş olması ve tıbbi hizmetlerin daha çok insana ulaşması gibi nedenler bu artışın sebebi olarak düşünülmektedir. Etiyojik olarak bakıldığında, geçmiş yıllara kıyaslandığında, disgenезi ve ciddi hipotiroidi sıklığında artış olmadığı; dishormonogeneze bağlı veya hafif-geçici seyirli vakalarda artış olduğu saptanmıştır. Konjenital hipotiroidi hastalarında %15-40 arasında dishormonogenez sıklığı bildirilmiştir ve artış olduğu düşünülmektedir.

Primer konjenital hipotiroidi nedenlerinden olan dishormonogenez bağlı hipotiroidi, tiroid hormon sentez basamaklarında görevli reseptör veya enzimleri kodlayan genlerin mutasyonları sonucu, sıklıkla otozomal resesif geçişli görülür. Tiroid bezi ötopik (normal) yerleşimli olup, sıklıkla normal büyüklükte veya hafif büyüktür (guatr). Sodyum/iyot simporter (*NIS* veya *SLC5A5*), tiroid peroksidaz (*TPO*), tiroglobulin (*TG*), dual oksidaz 2 ve reseptörü (*DUOX2* ve *DUOX2*), pendrin (*SLC26A4* veya *PDS*), *IYD/DEHAL1* ve *SLC26A7* etiyojiden sorumlu genler olarak bildirilmiştir.

Teknolojinin gelişmesi sonucunda, karşılaştırılmalı genetik hibridizasyon (CGH), yeni nesil dizileme (targeted NGS) ve tüm ekzom sekanslama (WES) gibi yeni yöntemler, konjenital hipotiroidili olgularda geniş populasyon çalışmalarını mümkün kılmış, hastalarda hipotiroidiye neden olan birden fazla gende varyasyon saptanmış olup, hastalığın oligogenik kalıtım paternini göstermiştir. Konjenital hipotiroidizm ile ilişkili genlerin sayısının artmasına rağmen, konjenital hipotiroidizmin tam olarak ne kadarının bilinen genetik nedenlere atfedilebildiği ve spesifik genlerdeki mutasyonların göreceli prevalansı kesin olarak

bilinmemektedir ve çalışmaların sonuçları arasında farklılıklar mevcuttur. Örneğin yapılan çalışmalarda Doğu Asya toplumlarında en çok sorumlu tutulan gen gibi görünen *DUOX2*, Kore, Japonya ve Çin'de konjenital hipotiroidizm hastalarda %16-32, Avrupa ve Ortadoğu hastalarından oluşan bir grupta % 18 sıklıkta bildirilmiştir. Bu farklılıklar kohortun etnik kökeni ve çalışılan konjenital hipotiroidi tipi (disgenezi/dishormonogenez) seçiminden kaynaklanabilir.

Ülkemizde, akraba evliliğinin sık olması ve otozomal resesif geçiş paterninin hakim olduğu dishormonogeneze bağlı hipotroidi grubunda, bilinenden farklı bir genetik yelpazeye katkıda bulunmuş olabilir. Dishormonogeneze bağlı hipotiroidinin genetik etiyojisi ile ilişkili geniş kapsamlı ulusal verimiz oldukça az sayıdadır.

Artan konjenital hipotiroidi vakalarından, hafif klinik seyirli olan ve dishormonogeneze bağlı olan konjenital hipotroidilerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu artışın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Çalışılan konjenital hipotiroidi tipi, etnik köken açısından farklılık gösteren kohort seçimleri nedeni ile dishormonogenez prevalansı ve klinik seyri kesin olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmada amaç dishormonogenetik konjenital hipotiroidizm hastalarından oluşan iyi karakterize edilmiş bir kohortta, yeni nesil dizilemeyi kullanarak moleküler nedeni aydınlatmaktır. Çalışmamızda dishormonogeneze bağlı hipotroidi düşünülen çocuk hastalar alınmıştır. Çalışmaya görüntüleme yöntemleri ile tiroid disgenezi (ektopi, agenezi, hipoplazi, hemigenezi) dışlanmış ve aşağıdaki kriterlere giren hastalar alınmıştır;

1. Birinci derece akrabalarında (anne, baba veya kardeş) doğumsal hipotiroidi tanısı olan
2. Ebeveynleri arasında akrabalık öyküsü olan
3. L-tiroksin tedavi kesimi denenip, kontrolde TSH değeri ≥ 10 IU/mL olan hastalar alınacaktır.
4. Subklinik hipotroidi tanısı ile izlenip, tedavi almaz iken TSH değerleri >10 IU/L devam eden hastalar.
5. Konjenital hipotroidi tanısı ile izlenip, üç yaşını doldurmasına rağmen, L-tiroksin ihtiyacı > 2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ olan ve tedavi kesimi bu nedenle denenmemiş olanlar.
6. Konjenital hipotroidi tanısı ile birlikte guatrı olanlar.

Hastalardan yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi ile *GLIS3*, *TSHB*, *THRA*, *THRB*, *PAX8*, *NKX2-5*, *NKX2-1*, *FOXE1*, *TSHR*, *SLC5A5*, *SLC26A4*, *TG*, *TPO*, *DUOX2*, *DUOXA2*, *IYD*, *SLC26A7*, *DUOX1*, *ZNF607*, *SLC6A4*, *DIO1*, *DIO2*, *DIO3*, *TTR*, *GNAS*, *TRH*, *ALB*,

POR, TRHR, PHEX, SLC16A2, SERPINA7, IGSF1 genlerinden oluşan bir panel taraması yapılmıştır.

Sonuç; Çalışmaya kriterleri karşılayan 59 hasta (30 erkek, 29 kız) alındı. Otuzbir (%52,5) hastada herhangi bir gende varyant saptadık. Oligogenik kalıtmıdan bağımsız olarak kohortumuzdaki en yaygın olarak varyant saptanan gen *TSHR* geniydi (16/31). Bunu sırasıyla *TG* (7/31), *TPO* (6/31) *SLC26A4* (3/31), *DUOX2*(2/31) *THRB*(1/31), *DUOX1* (1/31) ve *DUOXA2* (1/31) izlemekteydi. Altı adet olguda oligogenik kalıtım (*TSHR-DUOXA2, TSHR-TG, SLC26A4-TG, TG-TPO, DUOX2-TSHR*) söz konusuydu. Bir adet olguda *TSHR* geninde biallelik varyant mevcuttu. Yirmiki hastada (%71) *TSHR, TPO, DUOX1, DUOX2, THRB, SLC26A4* ve *TG*'de monoalelik varyantlar tespit edildi. Beş adet novel varyant saptandı.

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, ileri dönemlerde dishormonogeneze bağı konjenital hipotiroidi olguları için tanı, tedavi ve takip protokollerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir; olası muhtemel gen tedavisi için yol gösterici olabilir. Sonraki nesillere verilebilecek prenatal ve postnatal genetik danışmanlıkta da bu verilerin önemli olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Konjenital Hipotiroidizm, Dishormonogenez, Yeni Jenerasyon dizi analizi

ABSTRACT

SUMMARY

Hypothyroidism is defined as insufficient thyroid hormone production by the thyroid gland due to any problem in the hypothalamus-pituitary-thyroid gland axis. It can be congenital or acquired. Congenital hypothyroidism is the most common endocrine disorder in the neonatal period and is one of the most important causes of preventable mental retardation. It can be seen as temporary (40-50%) or permanent (50-60%). Iodine deficiency or excess is among the causes of transient hypothyroidism due to maternal autoimmune thyroid diseases, maternal antithyroid drug use, or some drugs used in the neonatal period. Permanent hypothyroidism can be seen due to dysgenesis of the thyroid gland (60%) or dyshormonogenesis (40%), secondary or central hypothyroidism due to hypothalamo-hypophyseal causes, and transport/metabolism defects of thyroid hormones.

The incidence of congenital hypothyroidism is known as 1/4000, but there are publications showing an increase in its incidence in recent years, and its current incidence has been reported as 1/2000. The etiology of the increase in the number of cases is not known exactly. Reasons such as endocrine disrupting agents, lowering of the TSH threshold value used in the hypothyroidism screening test, and access to more people by medical services are thought to be the reasons for this increase. Etiologically, there was no increase in the frequency of dysgenesis and severe hypothyroidism when compared to previous years; It has been determined that there is an increase in cases related to dyshormonogenesis or with mild-transient course. The frequency of dyshormonogenesis has been reported to be between 15-40% in patients with congenital hypothyroidism and it is thought to increase .

Dyshormonogenesis-induced hypothyroidism, which is one of the causes of primary congenital hypothyroidism, is frequently seen in autosomal recessive inheritance as a result of mutations in the genes encoding the receptors or enzymes involved in the thyroid hormone synthesis steps. The thyroid gland is eutopically located (normally), often of normal size or slightly enlarged (goiter). Sodium/iodide symporter (*NIS or SLC5A5*), thyroperoxidase (TPO), thyroglobulin (TG), dual oxidase 2 and its receptor (*DUOX2 and DUOX2A2*), pendrin (*SLC26A4 or PDS*), *IYD/DEHAL1* and *SLC26A7* have been reported as genes responsible for the etiology .

As a result of the development of technology, new methods such as comparative genetic hybridization (CGH), next generation sequencing (targeted NGS) and whole exome sequencing (WES) have enabled large population studies in cases with congenital hypothyroidism. showed an oligogenic inheritance pattern. Although the number of genes

associated with congenital hypothyroidism is increasing, the exact extent of congenital hypothyroidism attributable to known genetic causes and the relative prevalence of mutations in specific genes is not known with certainty, and results vary between studies. For example, *DUOX2*, which seems to be the most responsible gene in East Asian populations in studies, has been reported with a frequency of 16-32% in congenital hypothyroidism patients and 18% in a group of European and Middle Eastern patients in Korea, Japan and China. These differences may be due to the ethnic origin of the cohort and the choice of congenital hypothyroidism type (dysgenesis/dyshormonogenesis) studied .

In our country, the frequency of consanguineous marriages and the autosomal recessive inheritance pattern may have contributed to a different genetic spectrum than is known in the dyshormonogenesis-related hypothyroidism group . We have limited national data on the genetic etiology of hypothyroidism due to dyshormonogenesis.

Congenital hypothyroidism due to dyshormonogenesis with a mild clinical course is thought to be responsible for the increasing cases of congenital hypothyroidism. The reason for this increase is not fully known. The prevalence and clinical course of dyshormonogenesis are not known precisely due to the type of congenital hypothyroidism studied and the selection of cohorts differing in ethnicity.

The aim of this study is to elucidate the molecular cause using next generation sequencing in a well-characterized cohort of dyshormonogenetic congenital hypothyroidism patients. In our study, pediatric patients who were thought to have hypothyroidism due to dyshormonogenesis were included. Thyroid dysgenesis (ectopia, agenesis, hypoplasia, hemiagenesis) was excluded by imaging methods and patients with one of the following criteria were included in the study;

1. First degree relatives (mother, father or sibling) diagnosed with congenital hypothyroidism
2. Having a history of consanguinity between parents
3. L-thyroxine treatment cut will be tried and patients with TSH value ≥ 10 IU/mL in the control will be taken.
4. Patients with a diagnosis of subclinical hypothyroidism who continue to have TSH values of >10 IU/L while not receiving treatment.
5. Those who are over three years old and L-thyroxine requirement is $>2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$.
6. Those with the diagnosis of congenital hypothyroidism and goiter.

Using the next generation sequencing (NGS) method from patients, *GLIS3*, *TSHB*, *THRA*, *THRB*, *PAX8*, *NKX2-5*, *NKX2-1*, *FOXE1*, *TSHR*, *SLC5A5*, *SLC26A4*, *TG*, *TPO*, *DUOX2*,

DUOXA2, IYD, SLC26A7, 7DUOX1, ZNF60 A panel screen of the genes, *SLC6A4, DIO1, DIO2, DIO3, TTR, GNAS, TRH, ALB, POR, TRHR, PHEX, SLC16A2, SERPINA7, IGSF1* was performed.

Conclusion; Fifty nine patients were included in the study. A total of 31 patient (52.5%) were detected to have a variant. Independent of oligogenic inheritance, the *TSHR* was the most common variant detected gene in our cohort (16/32). The second most common gene was *TG* (8/32) and the other genes were *TPO* (6/32) *SLC26A4* (3/32) , *DUOX2*(2/32) *THRB* (1/32), *DUOX1* (1/32) *DUOXA2* (1/32). Six cases had oligogenic inheritance (*TSHR-DUOXA2, TSHR-TG, SLC26A4-TG, TG-TPO, DUOX2-TSHR*). One case had a biallelic variant in the *TSHR* gene. Monoallelic variants were detected in *TSHR, TPO, DUOX1, DUOX2, THRB, SLC26A4 and TG* in 22 patients (71%). Five novel variants were identified.

The data that obtained as a result of this study may contribute to the development of diagnosis, treatment and follow-up protocols in the future since they have congenital hypothyroidism due to dysmorphogenesis; It will be a guide for possible gene therapy. This data will also be important in prenatal and postnatal genetic counseling that can be given to future generations.

Keywords: Congenital Hypothyroidism, Dysmorphogenesis, Next generation sequencing

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tiroid Bezi Embriyolojisi ve Anatomisi	2
2.2. Tiroid Hormon Sentezi	3
2.3. Tiroid Hormon sentezinin hipotalomohipofizer eksen düzenlenmesi	4
2.4 Tiroid Hormon Etkileri	5
3.1 KONJENİTAL HİPOTİROİDİ	8
3.1.1 Hastalığın Tanımı ve Epidemiyolojisi	8
3.2 Konjenital Hipotiroidi Etiyolojisi	9
3.2.1 Kalıcı Konjenital Hipotiroidi	9
3.2.1.1 Primer Kalıcı Konjenital Hipotiroidi	9
3.2.1.1.a Tiroid Disgenезileri	9
3.2.1.1.b Tiroid Dishormonogenezisleri	12
3.2.1.2 Sekonder Kalıcı Hipotiroidi	15
3.2.2 Geçici Konjenital Hipotiroidi	15
3.3 Konjenital Hipotiroidide Klinik Tanı ve Bulgular	17
3.4 Konjenital Hipotiroidide Görüntüleme Yöntemleri	18
3.5 Konjenital Hipotiroidi Tedavisi	19
4. GEREÇ ve YÖNTEM	21
4.1. Çalışma Grubu	21
4.2. Mutasyonlarının Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler	22
5. BULGULAR	25
6. TARTIŞMA	33
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	41
EKLER	
EK-1:Etik Kurul Onayı	48

KISALTMALAR

SİMGE	AÇIKLAMA
ACMG	AMERİKAN TIBBİ GENETİK VE GENOMİK KOLEJİ
CGH	GENETİK HİBRİDİZASYON
DIO	İYODOTRONİN
DIT	DİİYODO TİROZİN
DUOX2	DUAL OKSİDAZ 2
DUOXA2	DUAL OKSİDAZ 2 RESEPTÖRÜ
FOXE1	FORKHEAD BOX PROTEİN E1
GLİS3	GLİS AİLESİ ÇİNKO PARMAC PROTEİNİ 3
HET	HETEROZİGOT
HOM	HOMOZİGOT
KH	KONJENİTAL HİPOTİROİDİ
LHX	LİM/HOMEBOX PROTEİNİ
MIT	MONOİYODO TİROZİN
NGS	YENİ NESİL DİZİLEME
NIS	SODYUM İYOT SİMPORTER
PAX8	PARİD BOX GEN 8
PROP1	PAİRED-LİKE HOMEBOX 1
RXR	RETİNOİD X RESEPTÖRÜ
SNP	TEK NÜKLEOTİT POLİMORFİZM
SLC26A4=PDS	PENDRİN
ST4	SERBEST T4
ST3	SERBEST T3
TARGETED NGS	YENİ NESİL DİZİLEME
TBG	TİROİD BAĞLAYICI GLOBULİN
TG	TİROGLOBULİN
TSH	TİROİD STİMÜLAN HORMON
TSHR	TİROİD STİMÜLAN HORMON RESEPTÖRÜ
TRH	TİROTİROPİN SALGILATICI HORMON
THRA	TİROİD HORMON RESEPTÖR ALFA
THRB	TİROİD HORMON RESEPTÖR BETA
T4	TOTAL T4

T3	TOTAL T3
TPO	TİROİD PEROKSİDAZ
TTF	TRANSLOCATION THREE FOUR
USG	ULTRASON
WES	TÜM EKSON SEKANSLAMA

TABLÖLAR

Tablo 1	Konjenital Hipotiroidi Sınıflaması	24
Tablo 2	Dishormonogeneze bağlı konjenital hipotiroidili hasta kohortunun klinik özellikleri.	41
Tablo 3	Dishormonogenetik Konjenital Hipotiroidi tanısı konan 31 çocuk için genotipik veriler ve kalıtım	45

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hipotiroidi, hipotalamus-hipofiz-tiroid bezi aksında herhangi bir sorun nedenli tiroid bezi tarafından tiroid hormonu üretimin yetersiz olması olarak tanımlanır. Konjenital ya da edinsel olabilir. İyot eksikliği hipotroidinin tüm dünyada en sık nedeni iken, iyot yeterli toplumlarda en sık nedenler ise konjenital hipotiroidi ve hashimoto tiroiditidir (1,2).

Konjenital hipotiroidi yenidoğan döneminde en sık endokrin bozukluk olup, önlenebilir mental retardasyonun en önemli sebeplerindedir. Geçici veya kalıcı olarak görülebilir. İyot eksikliği veya fazlalığı, annenin otoimmün tiroid hastalıkları, annenin antitiroid ilaç kullanması veya yenidoğan dönemi kullanılan bazı ilaçlara bağlı olarak geçici hipotroidi görülebilir. Türkiye'de geçici KH sıklığının %25-65 arasında bildiren yayınlar mevcuttur (1-3). Doğumsal hipotroidinin geleneksel insidansı 1/4000 olup son yıllarda görülme sıklığını 1/2000 bildiren yayınlar mevcuttur(1, 4, 5). Vaka sayısında artış etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Bu artışın sebebi olarak endokrin bozucu ajanlar, hipotroidi tarama testinde kullanılan TSH eşik değerinin düşürülmüş olması ve tıbbi hizmetlerin daha çok insana ulaşması gibi nedenler düşünülmektedir (4, 6). Geçmiş yıllara kıyaslandığında disgenezi ve ciddi hipotroidi sıklığında artış olmadığı ancak dishormonogeneze bağlı veya hafif-geçici seyirli vakalarda artış olduğu; dishormonogenez sıklığı %18'lerden %42'e çıktığı görülmüştür (7, 8).

Primer konjenital hipotroidi nedenlerinden olan dishormonogenez bağlı hipotroidi, tiroid hormon sentez basamaklarında görevli reseptör veya enzimleri kodlayan genlerin mutasyonları sonucu, sıklıkla otozomal resesif geçişli görülür. Tiroid bezi normal yerleşimli olup, büyüklüğü normal veya hafif artmıştır. Sorumlu genler; Sodium/iodide symporter (*NIS* veya *SLC5A5*), thyroperoxidase (*TPO*), tiroglobulin (*TG*), dual oxidase 2 ve reseptörü (*DUOX2* ve *DUOX2A2*), pendrin (*SLC26A4* veya *PDS*), *IYD/DEHAL1* ve *SLC26A7* olarak bildirilmiştir (9).

Teknolojinin gelişmesi sonucunda, karşılaştırılmalı genetik hibridizasyon (CGH), yeni nesil dizileme (targeted NGS) ve tüm eksom sekanslama (WES) gibi yeni yöntemler, konjenital hipotiroidili olgularda geniş popülasyon çalışmalarını mümkün kılmış, hastalarda hipotiroidiye neden olan birden fazla gende varyasyon saptanmış olup, hastalığın oligogenik kalıtım paternini göstermiştir. Konjenital hipotiroidizm ile ilişkili genlerin sayısının artmasına rağmen, konjenital hipotiroidizmin tam olarak ne kadarının bilinen genetik nedenlere atfedilebildiği ve spesifik genlerdeki mutasyonların göreceli prevalansı kesin olarak bilinmemektedir ve çalışmalar arasında farklılık göstermektedir(3). Örneğin yapılan

çalışmalarda Doğu Asya toplumlarında en çok sorumlu tutulan gen gibi görünen *DUOX2*; Kore, Japonya ve Çin'de konjenital hipotiroidizm hastalarda %16-32 sıklığında bildirilmiş iken (10, 11), Avrupa ve Ortadoğu hastalarından oluşan bir grupta % 18-38 sıklıkta bildirilmiştir (12). Bu farklılıklar kohortun etnik kökeni ve çalışılan konjenital hipotiroidi tipi (disgenezi/dishormogenez) seçiminden kaynaklanabilir (13).

Ülkemizde, akraba evliliğinin sık olması, otozomal resesif geçiş paterninin hakim olduğu dishormogeneze bağlı hipotroidi grubunda, bilinenden farklı bir genetik yelpazeye katkıda bulunmuş olabilir. Dishormogeneze bağlı hipotiroidinin genetik etiyojisi ile ilişkili geniş kapsamlı ulusal verimiz çok az sayıdadır.

Artan hipotiroidi vakalarından hafif klinik seyirli olan ve dishormogeneze bağlı olan konjenital hipotroidi sıklığındaki artışın sorumlu olduğu raporlanmıştır. Bu artışın etiyojisinin tam net olmaması (endokrin bozucular, tarama TSH değerinin dūřürölmesi), dishormogenezin gerçek prevalansı ve klinik seyri hakkında kesin bilgiler elde edilmesine engel olmaktadır. Bu çalışmada amaç; dishormogenetik konjenital hipotiroidizm dūřünülen hastalardan oluşan iyi karakterize edilmiş bir kohortta, yeni nesil dizilemeyi kullanarak moleküler nedenleri aydınlatmak, dishormoneetik konjenital hipotiroidinin genetik temelleri ve kalıtım paterni ve ilgili genlerdeki varyantların hastalık yapma potansiyellerini araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroid bezi embriyolojik gelişimi ve anatomisi

Tiroid bezi endokrin bezlerin en büyüğüdür. 1. ve 2. yutak ceplerinin ön tarafındaki tomurcuktan gelişir. Embriyonel gelişimin 4. haftasında oluşur (14). Farinksin ventral duvarında endodermal bir kalınlaşma ile oluşmaya başlar; daha sonra ductus tiroglossus oluşur (14). Bu yapı aşağı ve ön tarafa doğru büyür ve tüp şeklini alır; alt ucu ikiye ayrılıp birçok hücre sütununu oluşturur. Bu hücrelerden tiroit bezinin isthmusu, sağ ve sol lobları gelişir. Bazen de orta kısımdan isthmus parçasından yukarı doğru uzanan lobus pyramidalis ismi verilen kısım oluşur (14). Ductus thyroglossus kapanarak dil kökünde foramen caecum olarak kalır (14, 15).

Embriyonik hücrelerin normal morfogenezi ve göçü, bir takım genlerden kodlanan tiroid transkripsiyon proteinlerin karşılıklı etkileşimine bağlıdır. Tiroid transkripsiyon faktörü 1 (*NKX2A*, *TITF-1*, *TTF1* veya tiroid spesifik arttırıcı bağlayıcı protein *T/bp*), *NKX2* ailesinden bir transkripsiyon faktörüdür. *TTF1*, tiroid bezinin gelişiminde ve *TG*, *TPO* ve TSH reseptör genlerinin transkripsiyonel kontrolünde rol oynar. Aynı zamanda akciğerde, ön beyinde ve hipofizde bezinde eksprese edilir. *TTF-1* geni mutasyonlarında konjenital hipotroidi

ve tekrarlayan akut solunum sıkıntısı gelişir (16). Tiroid transkripsiyon faktörü 2 (*TTF2*), forkhead/winged-helix transkripsiyon faktör ailesi üyesi olup, gelişim sırasında tiroid ve ön hipofizde ifade edilir. Matur tiroid bezinde, *TG* ve *TPO* gen promotörlerinin düzenlenmesinde rol oynar. *TTF2*'deki mutasyonlar tiroid agenezisi, yarı damak, koanal atrezi, bifid epiglottis ve dikenli saçlar ile prezente olan doğumsal hipotroidiye neden olur (8). *PAX* proteinleri yüksek oranda korunmuş DNA bağlayıcı alanlar içerir ve embriyogenez sırasında önemli roller üstlenen bir transkripsiyon ailesi oluştururlar. *PAX8* tiroid divertikülünde, gelişmekte olan orta ve arka beyin ve böbrekte eksprese edilir. *PAX8* tiroid bezi gelişimi, *TPO* ve *TG* genlerinin ekspresyonunda rol oynar. Heterozigot mutasyonları kompanse hipotiroidizm, ötopik veya ektopik tiroid hipoplazisi veya kistik rudiment tiroid bezi ile prezente olur.

Tiroid bezi, boynun ön kısmında 5.servikal ve 1.torakal vebralar arasındadır. Sağ ve sol olmak üzere iki lobtan oluşur; iki lobu isthmus birbirine bağlar (14). İsthmus, trakeanın önünde yerleşimlidir. İsthmus nadiren de olsa bulunmayabilir. Tiroid bezi farklılıklar görülse de yaklaşık 25 gr ağırlıktadır(14). Kadın cinsiyette erkeklere oranla biraz daha ağırdır. Ancak 8 ay ile 15 yaş arasında tiroid bezi hacminde cinsiyetler arasında önemli bir farklılık yoktur (14).

2.2 Tiroid hormon sentezi

Tiroid bezi folliküler hücrelerinden tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) olarak adı verilen hormonların salınımını yapar (14). T3 aktif formdur ve dolaşımdaki T3'ün %80'i esas olarak karaciğer ve böbrekte olmak üzere periferik dokularda T4'ün T3'e deiyodinasyonu ile oluşmaktadır (17). Tiroid hormon üretiminin ilk aşaması iyodürlerin kandan tiroidin bez hücrelerine ve folliküllere taşınmasıdır (14). Tiroid hücrelerinin bazal zarında yerleşik olan; bir iyodür iyonu ile iki sodyum iyonunu bazolateral (plazma) zardan hücre içine taşıyan sodyum-iyodür birlikte taşıyıcısı (NIS) aktivitesi ile iyodürü hücre içine aktif olarak alır (14, 18). NIS, elektrokimyasal gradiente karşı 2 sodyum ve 1 iyot iyonunun hücre içine geçişini sağlar. Bu geçiş iyodür tutulması olarak isimlendirilmiştir ve bu pompanın aktivitesi TSH ile artırılır; tiroid hormonlarının sentezinde hız sınırlayıcı basamaktır. Epitel hücresine alınan iyot, folikülün apikal tarafında bulunan pendrin ile kolloide geçer. Tiroid Hücreleri, tiroglobulin (TG) denilen 335.000 molekül ağırlığında olan bir glikoprotein sentezleyip folikül içine salgılar. Her bir TG molekülü 70 tirozin aminoasit içerir ve T3 ve T4 hormonlarının yapımı ve depolanmasında görevli ana maddedir. İyodürün, TG molekülüne bağlanmasına, TG'in organikleşmesi olarak isimlendirilir. Okside olan iyot, moleküler iyodinaz enzimi ile tirozine bağlanır tirozinin iyodinasyonu sonunda önce monoiyodotirozin (MIT)'e, daha sonra diiyodotirozin (DIT)'e dönüşür. MIT+DIT birleşerek T3 ü, DIT+DIT

birleşerek ise T4'ü oluştururlar. Eşleşme Tiroid Peroksidaz (TPO) tarafından kolaylaştırılır. Kolloid içinde TG'e bağlı bulunan MIT, DIT, T3, rT3 ve T4, hücrenin apikal yüzeyinden küçük bir miktar kolloid ile birlikte pinositik veziküller oluşturur ve endositoz ile folikül hücresine alınır. Daha sonra hücre sitoplazmasında bu veziküller ile lizozomlar birleşerek sindirim vezikülleri oluştururlar. Bu enzimlerden proteazlar (Katepsin B) TG molekülünü sindirir ve bağlı hormonlar serbest kalır. MIT ve DIT sitoplazmada kalırken T3, rT3 ve T4, hücrenin bazolateral yüzünden kapiller kana geçerler. MIT ve DIT'larda bağlı bulunan İyodür (I-) deiyodinaz enzimi ile ayrılır ve tekrar hormon yapımında kullanılmak üzere pendrin kanalı ile kolloide geri gönderilir (19).

Metabolik olarak inaktif olan rT3'ün % 95'i, T4'ün periferik deiyodinasyonu ile oluşur. Tiroid hormonlarının sentezi tamamlandıktan sonra her bir tiroglobulin molekülü 30 kadar tiroksin molekülü ve az sayıda triiyodotironin molekülü bulundurur (14). Bu sayede vücudun normal tiroid hormon ihtiyacını 2- 3 ay boyunca karşılamaya yetecek düzeyde hormon depo edilir (14). Bu yüzden tiroid hormon sentezi durduğu zaman, eksiklik belirtileri birkaç ay gözlenmez (14).

Tironaminler olarak adlandırılan, tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3) üretimi için periferik kanda miktarda iyot bulunması gerekmektedir. Vücutta normal fizyolojinin devamı için alınması gereken iyot miktarı yaşa göre değişmekte olup, ilk 6 yaşta günlük 90 µg, 6-12 yaş arasında 120 µg, 12 yaş üzeri çocuk ve erişkinde 150 µg gebe ve emziren kadında 200 µg/gündür(20). Kanda üç çeşit protein ile tiroid hormonları taşınır bunlar; tiroksin bağlayıcı globülin(TG) , tiroksin Bağlayıcı Prealbumin (TBPA) ve albümindir (14). T3'ün TBG'ye bağlanma gücü T4'e göre daha zayıftır. Böylece T3 dokulara T4'ten daha önce ulaşır daha hızlı etki gösterir ve 3-4 kat daha aktiftir. T3'ün yarı ömrü 2-3 gün T4'ün yarı ömrü ise 6-11 gündür (14). Hücre içinde aktif form T3'tür. T3 ve T4 karaciğerlerde glukoronik asit ile konjuge edilip, safra ile atılırlar (14).

2.3. Tiroid hormon sentezinin hipotalamohipofiz eksenini tarafından kontrolü

Hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseninin kontrolünde üç ana hormonal sinyal rol oynar:

1. Hipotalamusun paraventricüler çekirdeğindeki (PVN) nöronlar tarafından üretilen TRH
2. Hipofiz tirotrop hücrelerinden sentezlenen TSH
3. Tiroid tarafından sentezlenen, TSH ile modüle edilen, tiroksin ve triiyodotironin.

TSH'nın ön hipofizden salınımı; hipotalamustan salınan tirotropin serbestleştirici hormon (TRH) tarafından kontrol edilir(14). TRH, median eminensden salgılanır ve buradan hipotalamushipofiz portal sistemi ile ön hipofize taşınır (21). TRH, ön hipofiz bez hücrelerini

uyararak TSH salgısını artırır. Diğer hipofiz hormonları gibi, TSH de pulsatil salınır. TSH salınımı günde 5-20 kez olup ortalama 0,6 mU/l amplitüde sahiptir (22). Bu salınımlar ile gece yarısı maksimum TSH salgılanmasına yol açan bazal bir sirkadiyen ritim oluşur ve ertesi gün akşama kadar kademeli olarak azalır. TSH'nin pulsatil sekresyonunu tetikleyen intrinsek mekanizma büyük ölçüde bilinmemektedir ancak hipotalamusun bu konuda önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. TRH'da hipotalamustan pulsatil bir şekilde salgılanır; bununla birlikte, TRH'nin yalnızca TSH'nin amplitüdünü etkilediği salınım sıklığını değiştirmediği görülmüştür. Hayvan deneylerinde; hipotalamustan deneysel olarak bağlantısı kesilmiş hipofizlerde TSH'nin pulsatil salgısının korunduğu gösterilmiştir (19).

2.4 Tiroid Hormonunun Etkileri

Tiroit hormonları fizyolojik etkilerini, hedef organlardaki tiroit hormon reseptörlerine (THR) bağlanarak gösterir. Tiroid hormonlarının pleiotropik etkilerine, memeli sinir sisteminin gelişimi için de önemli olan bir grup transkripsiyon faktörünü temsil eden tiroid hormon reseptörleri (TRH'ler) aracılık eder. T3'ü yüksek afinite ile bağlayan TR'ler, steroid/tiroid hormonu reseptör süper ailesinin üyeleridir. T3'e bağlandıktan sonra, hedef genlerin promotör bölgelerinde bulunan hormon yanıt elemanlarına (HRE'ler) bağlanırlar.

Alfa (THRA) ve beta (TRHB) olmak üzere başlıca iki majör THR ve bunların da farklı isoformları mevcuttur. THR alfa, *THRA* geni tarafından kodlanır, iki farklı izoformu mevcuttur (TR α 1 ve TR α 2). TR α 1 esas olarak kalp, kemik ve iskelet kasında eksprese edilir. TR α 2 vücutta ifade edilir. TRH beta, *TRHB* geni tarafından kodlanır ve iki izoform (TR β 1 ve TR β 2) mevcuttur. TR β 1 ağırlıklı olarak beyin, karaciğer ve böbrekte, TR β 2 ise hipofiz, retina ve kokleada eksprese edilir. TR α 1, TR β 1 ve TR β 2, T3'ü benzer afinite ile bağlar (23). *TRHB* mutasyonları, tiroid hormon direnci olarak adlandırılır ve nadir görülen bir hastalıktır (insidans 1/50.000 canlı doğum). Yüksek serbest tiroid hormon konsantrasyonları, uygun olmayan şekilde normal veya yüksek TSH ve iyodotironinlere karşı azalmış periferik tepkiler ile karakterizedir (24). Klinik fenotipi, klinik semptomların yokluğundan, ağırlıklı olarak TR β (karaciğer, böbrek ve akciğer) eksprese eden dokulardan kaynaklanan guatr ve hipotiroidizm ile ilgili semptomlar, büyüme bozukluğu, zeka geriliği, dikkat eksikliği hiperaktivite dahil olmak üzere şiddetli belirtilere kadar değişir. *THRA* mutasyonları hipotalamus-hipofiz-tiroid eksenini daha az etkiler ancak ciddi büyüme geriliğine, dismorfik özelliklere, şiddetli kabızlık veya megakolon gibi gastrointestinal bozukluklara, bradikardi, azalmış kas tonusu ve T3'e direnç nedeniyle bozulmuş ince ve kaba motor gelişimine neden olabilir (25).

Tiroid hormonunun genel etkisi birçok genin çekirdekte transkripsiyonunu uyarmaktır. Vücudun hemen hemen tüm hücrelerinde, protein sentezini (enzim, yapısal ve taşıyıcı)

artırır(14). Tiroid hormon reseptörleri DNA ipliklerine bağlı ya da ipliklerin hemen yakınında bulunurlar. Genellikle tiroid hormon reseptörü, DNA üzerindeki özgül tiroid hormon yanıt birimi olan retinoid X reseptörü (RXR) ile birleşerek heterodimer oluşturur (14). Reseptörler tiroid hormonuyla bağlanınca aktifleşir ve transkripsiyon başlar. Çok sayıda farklı tipte haberci RNA üretilir ve çok sayıda yeni hücre içi protein üretmek için sitoplazmik ribozomlarda RNA translasyonu meydana gelir(14). Tiroid hormonlarının etkilerinin çoğunun, bu proteinlerin enzimatik ve diğer işlevlerine bağlıdır. Tiroid hormonlarının, gene bağlı olmayan hücresel etkileri de mevcuttur bunlar; iyon kanalları ve oksidatif fosforilasyonun düzenlenmesini, siklik AMP veya protein kinaz sinyal zincirleri gibi hücre içi ikincil habercilerin aktivasyonunu kapsar(14). Bu çeşit etkileri kalp, hipofiz ve yağ dokularında tanımlanmıştır (14).

Santral sinir sistemi gelişimine etkileri

Tiroid hormonu genel olarak doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde beynin gelişim hızını artırır. Tiroid hormonu sıklıkla beyin işlevlerinin gelişmesini sağlarken eksikliği bu gelişimi azaltır. Hipertiroidili kişilerde aşırı sinirlilik, kaygı, endişe ve paranoya gibi birçok psikonorötik eğilim gelişebilir.

Büyüme ve gelişme üzerine etkileri

Tiroid hormonunun büyüme üzerine etkisi esas olarak çocuklarda belirgindir. Tedavi edilmeyen hipotiroidili çocuklarda büyüme gelişme geriliği oluşabilir. Kontrolsüz hipertiroidisi olan çocuklarda ise yaşlarına göre oldukça uzun boylu olmalarına yol açan aşırı iskelet büyümesi oluşabilir fakat epifizlerde erken yaşta kapanacağından büyüme süresi ve sonunda ulaşacağı erişkin boyu aslında kısalmıştır(14). Tiroid hormonu fetal hayatta ve doğumdan sonraki ilk yıllarda beyin büyüme ve gelişimini üzerine etkilidir. Fetüste yeterli miktarda tiroid hormonu yoksa prenatal ve postnatal beyin büyüme ve gelişmesi büyük oranda etkilenir ve beyin normalden küçük olur(14). Hipotiroidi tedavisi gecikir ise mental retardasyon görülebilir.

Plazma ve Karaciğer Yağlarına Etkisi

Tiroid hormonunun artışı, serbest yağ asitlerini artırırken plazmadaki kolesterol, fosfolipit ve trigliseritleri ise azaltır (14). Tiroid hormon salınımının azalması ise kolesterol, fosfolipit ve trigliseritlerin düzeylerinin plazmada büyük oranda artmasına ve karaciğerde aşırı yağ depolanmasına neden olur. Uzun süreli hipotiroidizmde, plazma kolesterolündeki artış nedeni ile ateroskleroz meydana gelebilir(14). Tiroid hormonunun plazma kolesterol düzeyini azaltması kolesterolün safraya salgılanma hızını belirgin şekilde artırması ve sonunda feçesle kaybına yol açması ile olur(14). Tiroid hormonunun kolesterol salgısını

artırmasındaki olası mekanizma, karaciğer hücrelerindeki düşük dansiteli lipoprotein reseptörlerini artırması, düşük dansiteli lipoproteinlerin plazmadan hızla uzaklaştırılması ve sonunda bu lipoproteinlerdeki kolesterolün karaciğer hücreleri tarafından safraya salgılanmasıdır (14).

Bazal Metabolik Hızın Artması

Tiroid hormonu vücudun bütün hücrelerinde metabolizmayı hızlandırır, aşırı miktarlardaki hormon, bazal metabolizma hızını normalin % 60-100'üne kadar artırabilir; tiroid hormonu üretilmediği zaman ise, bazal metabolizma hızı normalin yarısına kadar düşer (14).

Kalp-Damar Sistemine Etkisi

Tiroid hormonları dokularda metabolizmanın artışı yaparak oksijen kullanımını, dokulardan metabolik son ürünlerin artışına yol açar (14). Bu durum vazodilatasyona ve kan akımında artışa neden olup; kalp debisini artırır. Hipertiroidi varlığında bazal kalp debisinin yüzde 60 ve üzerine kadar çıkabilir (14). Şiddetli hipotiroidizmde ise debi azalır, normalin yüzde 50'sine kadar düşebilir (14). Tiroid hormonunun etkisiyle kalp hızı da artar. Tiroid hormonunun debi ve nabız etkileri ile kalbin uyarılabilirliğine direkt bir etkisi vardır. Bu etki önemlidir; çünkü kalp hızı, klinisyenlerin bir hastada tiroid hormonunun aşırı veya yetersiz olup olmadığını saptamak için kullandıkları bulgulardan birisidir. Bununla birlikte, hipertiroidide uzun süreli aşırı protein katabolizması nedeniyle kalp kasının kuvveti azalabilir bazı ağır tirotoksikozlu vakalar kalp debisinin artması sonucu kalp yükündeki artış ve miyokard yetmezliğine ikincil gelişen kalp dekompanyasyonu oluştuğu görülmüştür(14). Metabolizma hızının artması neticesinde oksijen kullanımını ve karbondioksit oluşumunu artırarak solunumun derinliğini ve hızını artıran bütün mekanizmaları uyarır (14).

Mide-Barsak Hareketlerinde Artma

Tiroid hormonu, iştah ve besin alımını artırır bu etkilere ek olarak gastrointestinal sıvılarının salgılanma hızını ve mide-bağırsak hareketlerini de artırır. Hipertiroidizmde sıklıkla ishal görülür iken hipotiroidizmde ise kabızlık beklenir (14).

Kasların İşlevine Etkisi

Tiroid hormonunda artış genellikle kasların cevabını güçlendirir fakat hormon miktarı çok yüksek olduğu zaman, aşırı protein katabolizması nedeniyle kaslarda güçsüzleşme meydana gelebilir. Tiroid hormonunun eksikliği kasların kasılmasını azaltır ve kaslar kasıldıktan sonra yavaş gevşer. Hipertiroidizmin en tipik belirtilerinden birisi ince kas tremorudur. Saniyede 10-15 kez kadar hızlı bir frekansla oluşur(14). Tremor, uzatılan parmakların üzerine bir kağıt koyup, kağıdın titreşim derecesi izlenerek kolayca görülebilir. Bu tremorun, kas tonusunu kontrol eden omurilik alanlarındaki nöron sinapslarında

işlevselliğin artmasına bağlı olduğuna düşünülmektedir(14). Tremor, tiroid hormonunun merkezi sinir sistemi üzerindeki etki derecesini değerlendirmede önemli bir göstergedir(14).

Diğer Endokrin Bezlere Etkisi.

Tiroid hormonunun artması, bezlerin çoğunda salgı hızını ve dokuların hormonlara gereksinimini de artırır. Tiroid hormonu kemik yapımıyla ilgili birçok metabolik aktiviteyi de artırması nedeni ile paratiroid hormon gereksinimini de arttır Adrenal glikokortikoidlerin karaciğerde inaktivasyon hızlanır. Bu durum, ön hipofizden adrenokortikotropik hormon yapımında artışa ve sonuçta adrenal bezlerden glikokortikoid salgılanma hızında artışın ile sonuçlanır (14) .

3.1 KONJENİTAL HİPOTİRODİ

3.1.1.Hastalığın Tanımı ve Epidemiyolojisi

Hipotiroidi, tiroid hormon eksikliği anlamına gelir. Yenidoğan bebeklerde tiroid hormon yetersizliği ile karakterize olan klinik tablo konjenital hipotiroidi (KH) olarak adlandırılır. Bu dönemde en sık karşılaşılan endokrinolojik sorundur ve tüm dünyada önlenebilir mental retardasyonun en sık nedenlerindedir. Prevalansı ırk ve etnik yapıya göre değişmekle birlikte dünya genelinde 3500-4000 canlı doğumda birdir (26). Ülkemizde 1991-1992 yıllarında alınan 30097 kan örneğinde yapılan bir çalışmada, KH insidansı 1/2736 olarak bulunmuştur (4). Bu artışın etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. 1970 den önce konjenital hipotiroidi prevalansının 1/7000-10000 arasında olduğu 1975 sonrası topuk kanında tarama başlanması ile beraber ise prevalansı 1/3000-4000 saptanmıştır (1, 4, 5). Tıbbi hizmetlerin daha çok sayıda insana ulaşması bu artışın nedenlerinden biri olarak düşünülmüştür. TSH tarama programındaki 2000 yılı öncesi TSH sınır değeri 20-25 mU/L olup; 2006 yılından sonra bu değer 6-10 mU/L olarak değiştirilmiştir. Prevalansın artışından sorumlu olarak düşünülen bir etken de tarama TSH eşik değerinin düşürülmesi olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, KH insidansındaki genel artış, yalnızca daha düşük tarama TSH eşik değerlerine bağlanamaz; çevresel, etnik ve genetik faktörler dikkate alınmalı ve daha fazla değerlendirme yapılmalıdır (27, 28). Hormonların sentezini salınımını, metabolizmasını etki veya atılımını değiştiren ekzojen maddeler endokrin bozucu ajanlar olarak adlandırılır; ilaçlar ve pestisitleri de içine alan birçok kimyasal maddeyi kapsar. Tiroid bezini etkileyen kimyasal maddelere örnek olarak Poliklorlu Bifeniller(PBC) verilebilir. PCB'lerin tiroid üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışmaların birçoğunda, çevresel PCB düzeylerinin tiroid hormon düzeylerindeki azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(29-31). Fakat PCB maruziyeti ile tiroid hormon düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır(32, 33). Endokrin bozucu kimyasal ajanlara maruziyet sonuçlarının insanlara ait verileri oldukça

sınırlıdır ve elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Endokrin bozucu kimyasal maddelerin tiroid bezi ve hormonları üzerindeki olası etkilerinin ve bu etkilere ait mekanizmaların belirlenmesi için daha çok çalışma gereklidir. Konjenital hipotiroidi her iki cinsiyette eşit olarak görülse de kızlarda görülme sıklığını daha yüksek biliren çalışmalar mevcuttur (34).

3.2 Konjenital hipotroidi etiyolojisi

Konjenital hipotiroidi kalıcı ve geçici olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Tablo 1). Kalıcı KH'de tiroid hormon yapım yetersizliği yaşam boyu devam eder ve sürekli tedavi gerektirir. Kalıcı KH'nin yaklaşık %85'i sporadik (en sık tiroid disgenezileri) ve %15'i herediterdir (çoğunlukla tiroid hormon sentezinin doğumsal bozuklukları). Geçici KH ise doğumda tiroid hormonlarında geçici bir eksiklik saptanır, ancak tipik olarak hayatın ilk ayları veya yıllarında normal tiroid hormon üretimi oluşur. Kalıcı KH, "kalıcı primer KH" ve "kalıcı sekonder (santral) KH" olmak üzere iki alt gruba ayrılır.

Primer hipotiroidi nedenleri tiroid bezinin gelişimsel bozuklukları, tiroid hormon üretimindeki bozukluklar ve TSH bağlanması veya sinyal iletimindeki bozukluklardan kaynaklanır. Santral/sekonder konjenital hipotiroidi nedenleri tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) yapımı veya bağlanmasının bozuklukları veya TSH üretim bozukluklarıdır. Periferik hipotiroidi tiroid hormonunun hücre içine transportu, metabolizması veya tiroid hormon aktivitesine karşı dirençten kaynaklanır.

3.2.1 Kalıcı Konjenital Hipotroidi

3.2.1.1 Primer Kalıcı hipotiroidi

3.2.1.1.a. Tiroid Disgenezileri

Tiroid bezinin embriyolojik gelişimi sırasındaki kusurları belirtir. 3 ana formda oluşur: ektoptik tiroid, tiroid agenezi ve tiroid hipoplazisi. Kalıcı konjenital hipotiroidi olguların %85'ini tiroid disgenezisi oluşturur. Sıklığı yaklaşık 1/4500'dir(35). Ektoptik tiroid, tiroid gelişimi sırasında tiroid dokusunun bir kısmı veya tamamının normal inişte duraklama nedeni ile olması gereken yerden başka bir lokalizasyonda bulunmasıdır. Ektoptik tiroid bezi tiroid disgenezisine bağlı konjenital hipotiroidilerin 2/3'ünü oluşturur ve kızlarda erkeklerden iki kat daha fazla görülür (36, 37). Tiroid kalıntısı genellikle tiroidin inişi sırasında dil kökünden başlayıp boynun önündeki son lokalizasyonuna kadar uzanan normal tiroglossal kanal boyunca bulunur büyük çoğunluğu sublingual yerleşimli olup; lingual, supra veya infrahyoid, intratrakeal yerleşimli de olabilir (16, 38, 39). Tiroid agenezi tiroid bezinin tam yokluğu iken hemiajenezisinde tiroidin sadece bir lobu gelişmiştir, diğer lob(%80'inde sol lob) ise yoktur.

Tablo 1:Konjenital Hipotiroidi Sınıflaması

KALICI KONJENİTAL HİPOTİROİDİ	GEÇİCİ KONJENİTAL HİPOTİROİDİ
A. Primer hipotiroidi	İyot eksikliği
1. Tiroid disgenezi (Agenezi, hemiagenezi, ektopi hipoplazi)	Aşırı iyota maruz kalma
2. Dishormonogenez (tiroid hormon biyosentezindeki bozukluklar) -Sodyum-iyot symporter bozukluğu (iyot tutulum bozukluğu) -Tiroid peroksidaz (organifikasyon) bozuklukları -Hidrojen peroksit oluşum bozuklukları (<i>DUOX2</i> , <i>DUOXA2</i> gen mutasyonları) -Pendrin defekti - tiroglobülin sentez defekti -İyodotirozin deiyodinaz bozuklukları (<i>DEHAL1</i> , <i>SECISBP2</i> gen mutasyonları)	Anneden bebeğe transplasental geçen TSH reseptör blokan antikorlar
3.TSH bağlanmasına veya sinyal direnci -TSH reseptör defekti -G-protein mutasyonu: psödohipoparatiroidi tip 1a	Maternal antitiroid ilaç kullanımı
B. Santral (sekonder) hipotiroidi	<i>THOX2</i> veya <i>DUOXA2</i> genlerinin heterozigot mutasyonları
İzole TSH eksikliği (TSH β subunit gen mutasyonu)	Doğumsal hepatik hemanjioma/hemanjioendotelyoma
TRH eksikliği İzole TRH eksikliği, hipotalamik displazi, hipotalamik lezyon (örn; hamartom, hipofiz sapı kesisi sendromu)	
TRH direnci, TRH reseptör gen mutasyonu	
Pitüiter gelişim veya fonksiyonu ile ilişkili transkripsiyon faktörleri eksikliğine bağlı hipotiroidi <i>HESX1</i> , <i>LHX3</i> , <i>LHX4</i> , <i>PIT1</i> , <i>PROPI</i> gen mutasyonları	
C. Periferik hipotiroidi	
-Tiroid hormon direnci -Tiroid hormon transport bozuklukları Allan Herndon-Dudley sendromu (monokarkoksilaz transporter 8 (MCT) gen mutasyonu)	
D.Sendromik Hipotiroidi -Pendred sendromu-(hipotiroidi, sağırılık, guatr) -Bamforth-Lazarus sendromu-(hipotiroidi, yarık damak, dikensi saç) TTF-2 mutasyonu -Ektodermal displazi-(hipohidrotik, hipotiroidi, silier diskenezi) -Kocher-Debre-Semelaigne sendromu-(musküler psödohipertrofi, hipotiroidi) -Koreoatetoz (hipotiroidi, neonatal respiratuar distres) <i>NKX2.1/TTF-1</i> gen mutasyonu -Obezite-kolit-(hipotiroidi, kardiyak hipertrofi, gelişimsel gerilik)	

Tiroid hipoplazisi ise bezin olması gerekenden küçük olmasıdır. Tiroid agenezi ve hipoplazisi tiroid disgenezilerin geri kalan üçte birini oluşturur. Tiroid disgenezilerin oluşumu genellikle sporadik olarak düşünülür. Bununla birlikte son dönemlerde kalıtsal olabileceği düşünülmektedir. Bir çalışmada tüm tiroid disgenezilerinin %2'sinde familial oluşum (*TTF-1*, *TTF-2*, *PAX-8*) tanımlanmıştır (40) Bazı genler tiroid disgenezisinin bir nedeni olarak suçlansa da bunlar genellikle az sayıdaki olgudan sorumludur. Bu genler “paired box gen eight (*PAX8*)”, *TTF-2*, *NKX2.1* ve *NKX2.5*'dir. (41-44) Bu genler tiroid embriyogenezi ve normal tiroid bez fonksiyonları sırasında eksprese olan transkripsiyon faktörlerini kodlarlar(16).

GLI-Similar 3 (GLIS3)

GLI-Similar 3 (GLIS3) geni, 9p24.2 kromozomunda bulunur. Farelerde ve insanlarda *GLIS3* eksikliği yenidoğan diyabeti, glokom, polikistik böbrek hastalığı, nörolojik bozukluklar, konjenital hipotiroidizm gibi çeşitli hastalıklarda saptanmıştır (45, 46). *GLIS3* eksikliği ile hipotiroidizm arasındaki ilişkinin ilk belirtileri, neonatal diyabet ve konjenital hipotiroidizm olarak adlandırılan nadir bir sendromu olan hastalarda yapılan klinik çalışmalardan elde edilmiştir (47). Bu hastalarda tiroid bezi anatomisi normal bir morfolojiden tiroid aplazisine kadar yüksek derecede değişkenlik gösterebildiği bildirilmiştir(38). *GLIS3*'teki birkaç yanlış anlamlı mutasyonun tiroid disgenezi ve dishormonogenez ile ilişkisini tanımlayan çalışmalar mevcut olup bununla birlikte, konjenital hipotiroidizm için önemi belirsizdir (48-50).

PAX8

PAX-8 geni kromozom 2q12-14 lokalizasyonunda yer alır. Ürogenital sistem, pankreas adacık hücreleri, lenfoid hücreler ve tiroid dokularında eksprese edilir. *PAX8*, hem insan hem de fare embriyolarında tiroid gelişimi ve fonksiyonel farklılaşma ve organogenezin (pluripotent endodermal hücrelerin belirlenmesinden fonksiyonel tiroid bezine kadar) düzenlenmesinde rol oynar (16, 51, 52). *PAX8* hastaları hafif hipertirotropinemiden şiddetli KH'ye kadar bir dizi hipotiroidizm şiddeti ve normal büyüklükteki ötopik tiroid bezinden atireoza kadar bir dizi yapısal anormallik ile ortaya çıkabilir(51). Ayrıca, kusurlu *PAX8* saptanan bireylerin fenotipleri genellikle tiroid anomalileri ile seyretse de bazı hastalarda tek taraflı böbrek agenezisi ve ürogenital sistemde anormallikler de eşlik ettiği görülmüştür (51, 53).

NKX—FOXE1

NKX2-5 (*NK2 homeobox 5*), *NKX2-1* (*NK2 homeobox 1*), *FOXE1* genleri, tiroid bezinin embriyonik gelişiminde anahtar rol oynayan transkripsiyon faktörlerini kodlar. Bu

genlerin fonksiyon kaybı oluşturan varyantları, tiroid dizgenезisinin sendromik formlarında gösterilmiş ve bu nedenle KH gelişimi için aday genler olarak kabul edilirler.

TSHR

TSHR, TSH'nin tiroid hormon sentezine yönelik etkilerine aracılık ettiği G proteinine bağlı bir transmembran reseptörüdür. *TSHR*'de fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar konjenital otoimmün olmayan hipertirotropinemi veya kompanse hipotiroidizmden (yüksek TSH ve normal tiroid hormon konsantrasyonları) tiroid hipoplazisi ile aşikar hipotiroidizme kadar değişen bir klinik sunumla TSH direncine neden olabilir. TSH'ye tam direnç durumunda levotiroksin tedavisi gerekli kabul edilir, ancak TSH'ye kısmi dirençte tedavinin gerekli olup olmadığı tartışma konusudur(54). Japonya'dan bildirilen bir yayında TSH reseptör mutasyonlarının KH'li hastaların %4,3'ünden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (genel popülasyonda 1/118.000) (31). İngiltere'de akraba evliliği olan ailelerin guatrlı doğmayan KH'li çocuklarının %5'inde TSH reseptör mutasyonları saptanmıştır (32). Bugüne kadar, 60'tan fazla bialelik inaktive edici *TSHR* mutasyonu tanımlanmıştır (55).

3.2.1.1.b. Tiroid Dishormonogenezisi (Tiroid Hormon Sentez ve Salınımındaki bozukluklar)

Dishormoneogenez kalıcı KH'lerin %10-15'ini oluşturur. Genellikle otozomal resesif olarak kalıtılır. Sıklığı yaklaşık 1/30000'dir (56). Ülkemizde akraba evliliğinin fazla olması nedeni ile daha sık görüldüğü düşünülmektedir. Tiroid hormon biyosentez ve salınım basamaklarının hepsinde herediter bozukluklar tanımlanmış olmakla birlikte dishormonogenez en sık *tiroid peroksidaz (TPO)* aktivitesindeki bozukluklardan kaynaklanır (57).

TİROİD PEROKSİDAZ --TPO

Tiroid peroksidaz (TPO) tiroid foliküler hücrelerinin apikal zarlarında yer alan, zara bağlı bir proteindir. Kromozomal olarak 2p25'de yerleşen *TPO* geni DNA'sı yaklaşık 150kb'dir (58). Tiroid peroksidaz hidrojen peroksit kullanarak iyotu Tg'ye bağlayarak T3 ve T4 oluşumunu sağlar. *TPO* geninde mutasyon ilk olarak 1990'da rapor edilmiştir (59). *TPO* genindeki mutasyonlar, toplam iyodür organizasyon kusurları (TIOD) veya kısmi iyodür organizasyon kusurları (PIOD) gibi tiroid hormonu üretiminde ciddi kusurlara yol açabilir. TIOD'lu hastaların tiroid dokusunda tiroid peroksidaz (*TPO*) aktivitesi saptanamaz(60). *TPO* mutasyonları, otozomal resesif kalıtılır (61). Tiroid bezinin yüksek radyoaktif iyot alımı ve sodyum perklorit uygulanması sonrasında %90'dan fazla boşalım olması ile bu tanı konulur (62).

TİROGLOBULİN (TG)

TG geni, 8. kromozomda (8q24.2-8q24.3) yerleşim gösterir, 270 kb uzunluğundadır. *TG* gen mutasyonu ile serum Tg yoğunluğunun düşük olduğu orta veya ciddi KH tablosu ortaya çıkmaktadır. İnaktif T4 ve T3 oluşumu söz konusudur. Tg sentezinin bozuk olduğu konjenital guatrli olgular bildirilmiştir (53, 54). Gendeki mutasyonlardan kaynaklanan tiroglobulin kusurları, genellikle düşük serum tiroglobulin konsantrasyonları ile orta ila şiddetli konjenital hipotiroidizm ile ilişkilidir (63, 64). *TG* ile ilgili artan sayıda mutasyon rapor edilmektedir.

DUOX2-DUOXA2

Hidrojen peroksit (H_2O_2), NADPHO(2) molekülünün NADPH oksidazlar olarak da bilinen DUOX1 ve DUOX2 enzimleri tarafından katalitik yıkımı yoluyla oluşur ve tiroglobulin tirozin kalıntılarının iyotizasyonu için gerekli olan TPO enziminin aktivasyonunda görev alır. DUOX1 ve DUOX2 enzimleri, 15. kromozomda (15q21.1) yerleşim gösteren DUOX1 ve DUOX2 genleri tarafından kodlanır. DUOXA2, DUOX2 için gerekli bir olgunlaşma faktörü olarak, DUOX2 enziminin doğru işlenmesi için gerekli bir yardımcı proteindir. DUOXA2 proteinleri, fonksiyonel aktif kompleksi oluşturmak için DUOX2 ile hücre yüzeyine göç eder.

DUOX2 geninin inaktive edici homozigot mutasyonları kalıcı veya geçici hipotiroididen sorumludur (65). *DUOXA2* de heterozigot mutasyonları saptanan bireylerde ise düşük veya normal serum T4, hafif yükselmiş TSH düzeyleri bildirilmiştir (66)

NIS (Na-I Symporter)/ SLC5A5

SLC5A5 geni 19p13.11 de yer alır, sodyum (Na)-iyodür symporter(NIS) üretimini sağlar. 15 ekzon, 643 aminoasitten oluşan bir yapıdır (67). NIS aracılı I-alımı, iyot içeren tiroid hormonlarının biyosentezindeki ilk adımdır (68). Normal ve neoplastik tiroid dokularının yanı sıra tükrük bezinde, mide mukozasında, meme, kolon, plesentada da bulunmaktadır. Kalıtsal iyot taşıma bozukluğu klinikte guatr, hipotiroidi ve tiroid bezinde radyoiyot alımının olmaması ile karakterizedir.

NIS geninde mutasyon saptanan hastalarda guatr ve hipotiroidizm ile ilgili klinik tablolarda belirgin heterojenite bildirilmiştir (69). Hipotiroidizmin derecesi tam kompanzasyondan ciddi hipotiroidizime kadar değişkendir. Bu hastaların ötiroid durumunda olabildikleri buna rağmen yaşamlarının ikinci on yılında multinodüler guatr geliştirebildiği de bildirilmiştir (70). Diyetle iyotu yüksek miktarda alanların klinik semptomları, az alanlara göre daha hafif seyrettiği ve bu nedenle tedavide tiroid hormonu verilmesi yerine iyot desteği tercih edilebileceği düşünülmektedir (64).

Pendrin (PDS)/ SLC26A4

SLC26A4 geni, 21 ekzondan oluşan, 7. Kromozomun q kolunda yerleşmiş, tiroid bezi ve kohleada eksprese olan bir gendir. 780aa büyüklüğünde, 86 kDA'luk, klor-iyot taşınmasında görevli pendrin proteinini kodlar. Pendrin hücre zarları boyunca klorür, iyodür ve bikarbonat dahil olmak üzere negatif yüklü parçacıkları (iyonları) taşır(71). Pendrin, özellikle iç kulak ve tiroid bezi olmak üzere çeşitli organ ve dokularda üretilir (71). Pendrin tiroid hücresinin apikal zarından aldığı iyotu kolloid lümene aktarır. Pendred sendromunda bu basamak bozulur. İlk kez 1896 yılında Vaughn Pendred tarafından tanımlanmıştır. Otozomal resesif bir hastalıktır. İnsidansı 7.5-10/100000'dir(72). Pendred sendromu iyi bilinen bir sendromik hipotiroidizm sebebidir. Hipotiroidi, guatr ve sağrlık triadı ile karakterizedir. Pendrindeki bozukluk iyot organifikasyonunu bozar ve bu hastalarda sıklıkla perklorat testi pozitifdir ancak negatif olması tanıyı dışlamaz (64, 73, 74). Fenotip heterojendir, kalıcı veya geçici olabilir, total veya kısmi organifikasyon bozukluklarına neden olabilir (65). Aile içi fenotipik farklılık gözlenebilir.

İyodotirozin Deiyodinaz (IYD)

T3 ve T4, tiroglobulinin tiroid folikül hücreleri tarafından makro ve mikropinositoz yoluyla alınması ve lizozomlarda parçalanmasına kadar kolloid içinde depolanır. MCT8 (monocarboxylate transporter 8) tiroid hormonlarının bazolateral membrandan kan dolaşımına salgılanmasına kısmen aracılık eder. Ayrık durumdaki MIT ve DIT, NADPH bağımlı iodotirozin dehalojenaz (daha önce *DEHALI* olarak bilinen *IYD*) ile daha sonra hormon sentezinde tekrar kullanılabilen serbest iyodür ve tirozine dönüşür(75-77). *IYD* mutasyonları hem monoallelizm hem de biallelik formlarda guatr ve hipotiroidizmine neden olabilir ve etkilenen kişilerde normal perklorat deşarj testi ile artmış idrar MIT ve DIT ve hızlı tiroidal iyod alımı görülür. Literatürde *IYD* mutasyonu saptanan hastalar için hastalığın ortaya çıkma zamanına göre fenotipik değişkenlik gösterdiği, yenidoğan taramalarının olağan olduğu ama yaşamın ilk yılında hipotiroidi gelişmesi nedeni ile mental retardasyona sebep olabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur (78).

SLC26A7

SLC26A7, SLC26A4 (pendrin) ile aynı taşıyıcı ailenin (SLC26) üyesidir ve iyodür, klorür için afinitesi yüksek olan bir anyon değiştiricidir. İlk olarak böbrek ve midede klorür/anyon değiştirici olarak tanımlanmış, sonradan SLC26A7'nin ağırlıklı olarak tiroid foliküler hücrelerinin lüminal tarafında bulunur ve iyodür taşınmasında rol oynadığını gösterilmiştir (79).SLC26A7 geninde homozigot mutasyonların, KH neden olduğunu bildirilmiş ve dishormonogeneze bağlı KH'nin yeni bulunan genetik nedenleri arasında yerini

almıştır. Pendrin sendromundan farklı olarak bu olgularda işitme kaybı bildirilmemiştir (1, 80, 81).

3.2.1.2 Sekonder Kalıcı Hipotiroidi

Doğumsal santral hipotiroidi genellikle TSH üretim bozukluklarından kaynaklanır ve sıklığı 1/25.000- 100.000 civarında olup çoğunlukla doğumsal hipopitüitarizmin bir bileşeni şeklindedir(35). Doğumsal hipopitüitarizm septo-optik displazi veya yarı damak ve/veya dudak şeklindeki orta hat bozuklukları ile birlikte ve daha geniş bir genetik sendromun parçası şeklinde olabilir. Pitüiter bez gelişimini düzenleyen *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *PIT1* ve *PROP1* genlerindeki mutasyonlar familyal hipopitüitarizmin nedenleri olarak rapor edilmiştir. TSH eksikliği yanında diğer pitüiter hormonlar olan büyüme hormonu, adrenokortikotropik hormon ve antidiüretik hormonda da sıklıkla eksiklik vardır. Nadiren spesifik gen defektleri santral hipotiroidiye neden olur. Bunlar izole TSH eksikliği (otozomal resesif, *TSH β* subunit geni) ve TRH reseptör gen mutasyonlarından kaynaklanan tirotropin salgılatıcı hormon direncidir.

3.2.2 Geçici Konjenital Hipotiroidi

Geçici KH, birçok gelişmiş ülkede topuk kanı taraması ile tespit edilen KH insidansındaki artışa önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Geçici hipotroidi tüm konjenital hipotiroidi olgularının %15-20 si olduğu özellikle prematürite ile sıklığının arttığı bildirilmiş (82) olup, aşağıdaki nedenlere bağlı olarak görülmektedir (83, 84).

1. İyot eksikliği: Maternal iyot eksikliği, özellikle prematüre doğan bebekleri geçici KH gelişme riski altına sokar. Bu durum genellikle doğumdan sonra birkaç haftada düzelir ancak daha uzun sürebilir. Bazı bebeklerde tedavi gerektirebilir (85, 86).
2. İyot fazlalığı: Fetal veya postnatal iyot fazlalığı, iyot alımını düzenleyememeleri ve renal klirensin azalması nedeniyle özellikle erken doğan bebeklerde geçici KH ile sonuçlanabilir. İyot fazlalığı, anne veya bebekte amiodaron, radyokontrast ajanlar ve iyot içeren antiseptikler gibi ilaçlara maruz kalma nedeniyle ortaya çıkabilir.
3. Maternal *TSHR* bloke edici antikolar: *TSHR* bloke edici antikoların anneden bebeğe geçmesi, 3-6 ay süren ve çoğu vakada tedavi gerektiren geçici hipotiroidizm ile sonuçlanabilir. Antikoların TSH'nin bağlanması ve etkisini bloke etmesi nedeniyle izotop alımı olmadığından sintigrafik bulgular ageneziiyi düşündürür ancak bez ultrasonografide normal olarak görüntülenir.
4. Annenin guatrojen alması: Guatrojenler tiroid bezinin işlevine müdahale eden maddelerdir. Çeşitli maternal guatrojenler arasında metimazol, karbimazol ve propiltiourasil gibi antitiroid ilaçlar, Brassica cinsi sebzelerin (brokoli, brüksel lahanası,

lahana, kanola, karnabahar, hardal yeşillikleri, turp ve kolza tohumu) ve diğer sebze ve meyvelerin (ıspanak, manyok, yer fıstığı, soya fasulyesi, çilek, tatlı patates, şeftali, armut ve lahana) aşırı tüketimi yer almaktadır. Son veriler, hamilelik sırasında endokrin bozuculara maruz kalmanın fetal ve neonatal tiroid fonksiyonunu da etkileyebileceğini göstermektedir.

5. *DUOX2* ve *DUOXA2* mutasyonları: Tiroid peroksidasyonu için hidrojen peroksit üretiminde rol oynayan *DUOX2* genindeki hem monoallelik hem de biallelik mutasyonlar geçici KH'ye neden olur.
6. İzole hipertirotropinemi: Bu durum TSH'nin yükselmesi ancak total ve serbest T4'ün normal olması ile karakterizedir. Bazı çocuklarda hipotalamik-hipofizer tiroid (HPT) ekseninin geçici immatüritesinden kaynaklanır. Diğerlerinde TSHR'nin inaktive edici mutasyonları geçici veya kalıcı KH ile ilişkili olabilir. Bu çocukların yaklaşık üçte birinde subklinik hipotiroidizm gelişebileceğinden tiroid fonksiyonlarının takibi önemlidir (87).
7. Maternal hipertiroidizm: Bu durum fetal TSH'yi baskılayabilir ve bebekte santral hipotiroidizme yol açabilir. Serumdaki serbest T4 konsantrasyonları düşüktür ve TSH düşük veya normal olabilir (88).
8. Prematürite ve çok düşük doğum ağırlığı: Bu bebekler, maternal-plasental T4 transferinin kesilmesi, HPT ekseninin immatüritesi, iyodotironinlerin sentezi ve periferik metabolizması üzerindeki gelişimsel kısıtlamalar ve iyot eksikliği gibi çeşitli nedenlerle hipotiroidizm geliştirme riski altındadır.
9. Steroidler ve dopamin: Bu ilaçların kritik durumdaki yenidoğanlarda kullanımı TSH salınımını inhibe ederek geçici santral hipotiroidizme neden olabilir.
10. İzole hipotiroidizm: Bu durum düşük serbest T4 konsantrasyonları, ancak normal TSH konsantrasyonları ve TSH'nin TRH stimülasyonuna normal yanıtı ile karakterizedir. Preterm ve çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde yaygındır ve bu bebeklerde tiroid dışı hastalık ve/veya ilaç kullanımına ikincil olarak da ortaya çıkabilir. Benzer tiroid disfonksiyonu T4 bağlayıcı globulin (TBG) eksikliği, yetersiz beslenme, karaciğer disfonksiyonu veya hasta ötiroid sendromundan iyileşmede de bulunabilir.
11. Karaciğer hemanjiyomları: konjenital karaciğer hemanjiyomları büyük miktarlarda tip 3 iyodotironin deiyodinaz üretir ve ciddi tüketim hipotiroidizmine neden olur. Serum T4 seviyeleri, deiyodinazlar tarafından inaktif ters T3'e (rT3) dönüştürülmesi nedeniyle düşüktür. Özellikle bebeklik döneminde hemanjiyomun proliferatif fazı sırasında genellikle büyük miktarlarda T4 gereklidir. Bazı yazarlar, eksojen T4 de inaktif rT3'e dönüştürüldüğünden iyodotironin ve T4 kombinasyonunun daha iyi sonuç verebileceğine

inanmaktadır. Hipotiroidizmin düzelmesi tedavi veya hemanjiyomun kendiliğinden involüsyonu ile gerçekleşir ancak yeniden büyüme ile tekrarlayabilir (89).

3.3 Konjenital Hipotiroidide Tanı ve Klinik Bulgular

KH tanısı birçok ülkede topuk taraması sonuçları ile konulmaktadır. Tarama ülkemizde ise 25 Aralık 2006 tarihinden itibaren, topuktan filtre kağıdına alınan kandan, TSH ölçüm esasına dayalı olarak uygulanmaya başlanmıştır. Yenidoğan taramalarının nasıl yapılacağı ve standardizasyonu tartışma konusudur. Temel olarak taramada iki metod kullanılmaktadır.

- i) TSH ile tarama, gerektiğinde T4 ölçümü (Genellikle Avrupa ülkelerinde)
- ii) T4 ile tarama, gerektiğinde TSH ölçümü (Kuzey Amerika)

TSH ile yapılan taramada, tiroksin bağlayıcı globulin (TBG) eksikliği, TSH yükselmesinin gecikmesi durumunda, santral hipotiroidi ve hipotiroksinemi durumlarını değerlendirmede hatalı sonuç verecektir. Doğum yapan annelerin 48 saatten önce hastaneden taburcu edilmesi yönündeki yaklaşım ve postnatal TSH yüksekliğinin bu dönemde olması sorun oluşturmaktadır. T4 ile primer taramada T4 düşük bulununca TSH bakılması, primer hipotiroidi ve aynı zamanda TSH bakılacağı için santral hipotiroidi tespiti de yapılabilecektir. Ayrıca TBG eksikliği de tespit edilebilecek ve potansiyel olarak hipertiroidi saptanabilecektir. Ancak bu ölçümle T4 değeri normal olan, ancak sonradan TSH yüksekliği gelişen vakalar gözden kaçacaktır. Tabii ki ideal tarama programı TSH ile T4 ölçümünün kombine olarak yapılmasıdır. Bu durumda yukarıda bahsi edilen olumsuzluklar engellenmiş olacaktır. Tarama 48 saat ile 4 gün arasında yapılmalıdır. 48 saatten önce yapılan taramalarda yanlış pozitif sonuçlar çıkacaktır. Transfüzyon sonrasında ve hasta olan bebeklerde ise yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir. Evde doğum ile dünyaya gelen, ciddi derecede hasta veya preterm olan bebeklerde tarama için 7. güne kadar beklenebileceği belirtilmektedir (90, 91).

Tiroid hormonları birçok organ, sistem, özellikle de beyin gelişimi açısından kritik öneme sahip olmasına rağmen, konjenital hipotiroidili bebekler genellikle doğumda normal gözüktür. Bunun nedeni, hipotiroidili bebeğin plasentadan geçen tiroid hormonları etkisiyle hipotiroidizmden korunmasıdır. Tiroid hormon sentezi olmayan yenidoğanların kord tiroid hormon düzeyi bunu iyi yansıtır. Çalışmalar bu çocukların kord tiroid hormon düzeylerinin normal çocukların kord tiroid hormon düzeylerinin 1/3-1/2'si düzeyinde olduğunu göstermiştir (92). Konjenital hipotiroidili vakalarının çoğu asemptomatik iken biyokimyasal olarak tanımlanır. Ancak %20 kadarı distal femoral epifizin hipoplazisi/yokluğu, arka fontanel açıklığının 1 cm'den daha büyük olması, indirekt hiperbilirubinemi gibi bulgular ile tespit edilebilir. Makroglossi, kaba sesle ağlama, nazal konjesyon, üfürüm, konstipasyon, letarji, somnolans gibi belirtiler ise çok nadirdir. Yenidoğan döneminde klinik tanı ancak

%3,1 vakada olasıdır (6). En sık başvuru nedenleri gelişme geriliği (%26,7), konuşma sorunu (%21,4) ve yürüme sorunu (%18,1) olarak tespit edilmiştir. En sık rastlanan bulgular ise hipotoni (%72), kabızlık (%66,8), kreten yüz görünümü (%64,6) ve makroglossi (%64,6) olarak tespit edilmiştir(6). TSH ölçümünün doğru olması için serum hemolizsiz ve nonlipemik olmalıdır. Çoğu bebeğin değerlendirildiği dönem olan postnatal 2-6 haftalar arasındaki TSH referans değeri 1,7-9,1 mU/L dir (91, 93).

3.4 Konjenital Hipotiroidi Tanısında Etiyolojik Değerlendirme İçin Kullanılan Görüntüleme ve Laboratuvar Testleri

Tiroid Sintigrafisi

KH etiyojisini belirlemek için sintigrafisi en doğru tanısal görüntüleme yöntemidir. Teknesyum-99m (99mTc) ve iyot-123 (123I), sodyum (Na)-iyodür, folikül hücresi apikal yüzünde bulunan simporter (NIS) tarafından tutulur ve her ikisi de görüntüleme için uygundur (72). Yenidoğanda tiroid bezinin anatomik yerleşimini belirlemek için ideal görüntüleme yöntemi değildir. Tiroid aplazisinde, levotiroksin uygulamasından kaynaklanan TSH baskılanması, tiroid bezinin kistik dejenerasyonu, TSHβ gen mutasyonları, TSHR mutasyonları, iyodür hapsedme kusurları ve maternal TSHR bloke edici antikor varlığında sintigrafide izotop madde alım eksikliği görülür. Bu nedenle sintigrafide radyonüklid alımı olmadığında tanının ultrasonografi ile doğrulanması gerekir. Sintigrafisi tedavinin ilk birkaç gününde yapılabilir. Bu nedenle görüntüleme yaptırmak gerekçesi ile tedavi geciktirilmemelidir. Sintigrafisinin dezavantajı, radyasyon içermesi olup, doz genellikle 0.925 mBq (25 mCi) dir (94). Bu radyasyon dozu düşük olup, 2-3 akciğer grafisi çekilmesi ile alınan radyasyona denktir (95).

Ultrasonografi (USG)

Ultrasonografi, tiroid bezinin varlığı, konumu, boyutu ve yapısını belirlemek için kullanılan önemli bir tanı aracıdır. Bununla birlikte noninvaziv, ışınlama gerektirmeyen, uygun maliyetli bir yöntemdir. Dezavantajları ektopik tiroidi saptamada sintigrafiden daha az duyarlı olması ve operatör bağımlı olmasıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda renkli doppler ultrasonunun duyarlılığının yüksek olduğu bildirilmiştir (96).

Serum Tiroglobulin (TG) Tayini

Serum TG düzeyi tiroid bez hacminin dolaylı bir belirteçidir (97). TG düzeyleri, tiroid aplazisinde en düşük, ektopide orta ve büyük bezlerde yüksektir. Gerçek aplazide serum TG düzeyi çok düşüktür, ölçülemez. Bununla birlikte, sintigrafide izotop madde tutulumu olmayıp, aplazi olduğu düşülenen bazı hastalarda serumda saptanabilir TG seviyeleri tespit edilmiştir. Bu da fonksiyonel tiroid dokusunun varlığını gösterir ve aplazi dışında sintigrafisi

tutulmuş bozukluklarını (*TSHβ* gen mutasyonları, *TSHR* mutasyonları, iyodür hapsedme kusurları ve maternal *TSHR* bloke edici antikor varlığı) işaret eder (97).

İdrarda İyot Tayini

Tiroit hormon sentezinde kilit öneme sahip bir element olan iyot, besinler yolu ile alınıp, intestinal absorpsiyon ile sistemik dolaşıma katılır ve %85-90'u renal yolla (idrar ile) atılır. İyot yeterliliğini değerlendirmek için idrarla atılan iyot miktarının ölçümü güvenilir bir yöntemdir ancak idrar iyot atılımında günlük ve diurnal değişkenlik gösterebileceği unutulmamalıdır(20). Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre çocuk ve erişkinlerde idrarda iyot atılımının 100-200 µg/L olması yeterli, 100 µg/L altında olması iyot yetersizliği olarak kabul edilir(20). Toplumdaki iyot eksikliğinin tanımlanmasında 100 örnekten spot idrarda iyot ölçümünün ortanca değerinin belirlenmesinin en iyi ve en etkin yöntem olarak öneren görüşler vardır (98-100).

3.5.Konjenital Hipotiroidi Tedavi

Topuk taramasından çağrılan her bebekten venöz doğrulama testi yapılmalıdır. Tedavi kararları venöz TSH değerine göre verilmelidir. Tedavi başlama kriterleri aşağıdaki gibidir;

1. Tiroit fonksiyon testlerinin venöz olarak doğrulama yapılamadığı koşullarda, topuk kanı TSH konsantrasyonu >40 mU/L ise LT4 tedavisine başlanabilir (13).
2. Serum fT4 konsantrasyonu yaşa özgü referans aralığına göre düşükse ve TSH yaşa özgü referans aralığının açıkça üzerindeyse bu durum primer hipotiroidi olarak kabul edilmeli ve LT4 tedavisine derhal başlanmalıdır (13).
3. Postnatal ikinci haftadan sonra venöz doğrulama testinde (topuk taraması yüksek olup, venöz alınan doğrulama değeri) serum TSH konsantrasyonu >20 mU/L ise fT4 normal olsa bile tedaviye başlanmalıdır (13).
4. Sağlıklı bir yenidoğanda, postnatal 21 gün geçtikten sonra, serum TSH konsantrasyonu 6-20 mU/L arasında ve fT4 konsantrasyonu yaşa özgü referans aralığında ise LT4 tedavisine başlanmasını ve daha sonraki bir aşamada, ilaç kesimi yaparak yeniden değerlendirilmesi önerilmektedir. Ancak bu öneri tartışmalıdır. Tedavi başlanmasını öneren ya da yakın takip öneren görüşler mevcut olup hasta düzeyinde karar verilmelidir (13).
5. fT4 veya TT4 düşük, TSH düşük-normal veya hafif yüksek (TSH ≤10 mU/L) olduğu durumlarda santral (sekonder/ tersiyer) hipotiroidi akla gelmelidir ve LT4 tedavisi

derhal başlanmalıdır. Santral KH'lı yenidoğanlarda, LT4 tedavisine, adrenal fonksiyonların sağlam olduğunu kanıtladıktan sonra başlanmalıdır. Eğer birlikte santral adrenal yetmezlik varsa ve LT4 tedavisinden önce tedavi edilemezse, adrenal kriz indüklenebilir. Adrenal fonksiyonları değerlendirmenin mümkün olmadığı durumlarda, olası adrenal krizi önlemek için LT4 tedavisi ile eş zamanlı glukokortikoid tedavisi başlanmalıdır.

fT4 düşüklüğü ve düşük-normal TSH birlikteliğinin ağır sistemik hastalık varlığında (hasta ötroid sendromu (non thyroidal illness) olarak adlandırılır) veya prematürlerde (prematür hipotiroidizmi) de görülebileceği akılda tutulmalıdır

Konjenital hipotiroidi tanısı konduğunda, 10-15 µg/kg/gün dozunda LT4 oral olarak verilmelidir (13). Levotiroksin tabletleri bölünebilir; anne sütü ya da su ile karıştırılarak verilebilir(13). İnfantlarda tiroid hormon tedavisinin yeterliliğini sağlamak için, serum T4 ve serbest T4 değerleri normal aralığın üst yarısında tutulması amaçlanır. LT4 alımından önce veya alımından en az 4 saat sonra serum fT4 ve TSH konsantrasyonlarının ölçülmesi, yaşa özel referans aralıkları göre değerlendirilmesi önerilir (13) LT4 tedavi başlanmasından 1 ila 2 hafta sonra ilk kontrol yapılmalı (günde 50 µg veya daha yüksek bir doz kullanıyor ise en geç 1 hafta sonra bakılmalı) sonraki takipleri ise serum TSH düzeyin normalleşene kadar her 2 haftada bir yapılması önerilir, daha sonra değerlendirme sıklığı 12 aylık olana kadar 1 ila 3 ayda bir düşürülebilir (13). 1- 3 yaş arasında 2 ila 4 ayda bir, bundan sonra büyüme tamamlanana kadar 3-6 ayda bir değerlendirmeler yapılmalıdır (13). LT4 dozu veya preparat değişimi yapılırsa 4 ila 6 hafta sonra değerlendirme yapılmalıdır (13).

Kalıcı KH tanısı kesinleşmeyen, ilaç ihtiyacı düşük (1-2 µg /kg/gün) seyreden hastalarda 3 yaşından sonra tedavi kesilerek, yeniden değerlendirme düşünülebilir. Son zamanlarda ise bu değerlendirmenin 6 aylık iken yapılabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur. Kalıcı KH olmayan hastalarda 6 aylık olunca günlük 3 µg/kg'dan daha az LT4 dozuna ihtiyaç var ise tedavi kesimi yapılarak yeniden değerlendirme yapılabileceği önerilmiştir (13). Tedavi kesimi sonrası en az 4 hafta sonra fT4 ve TSH kontrol edilmelidir (13). Dishomonogeneze bağlı KH'li hastalarda guatr ve tiroid nodülü geliştirebilir; bu durumlarda, serum TSH'nin normal aralığın alt kısmında olması ve ultrasonografi ile tiroid hacminin takibi önerilir (13).

4.GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Çalışma Grubu

Çalışma grubunun oluşturulabilmesi için, son 5 yılda hastanemiz çocuk endokrinolojide takip edilmiş hipotiroidi tanılı vakalar retrospektif olarak tarandı; toplam 637 vaka saptandı. Bu hastaların etiyolojik dağılımı şu şekilde idi;

- 1- 475 (%75,6) hasta konjenital hipotiroidi tanısı ile takipli idi. Hastaların 251'i (%39,4) ilaçsız izlemde idi, 224'ü (%35,2) ise LT4 tedavisi alıyordu.
- 2- 40 hasta (%6,3) tiroid disgenezisi (ektopi-agenezi-hipoplazi)
- 3- 48 hasta Down sendromu ve hipotiroidi(%7,54)
- 4- 51 hasta (%8) Hipotiroidi
- 5- 19 hasta (%2,9) otoimmün tiroid tanılı
- 6- 4 hasta ise(%0,62) santral hipotiroidi tanılı idi.

Konjenital hipotroidi tanısı ile izlenen hastalar arasından, aşağıdaki kriterlere sahip olanlar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya Alınma Kriterleri;

1) Görüntüleme yöntemleri ile tiroid disgenezisi (ektopi, agenezi, hipoplazi, hemiagenezi) dışlanmış ve aşağıdakilerden birinin eşlik etmiş olması:

- A) Birinci derece akrabalarında (anne, baba, kardeş) otoimmün veya cerrahi gibi iyatrojenik nedenler dışında hipotiroidi tanısı olan birey varlığı.
- B) Ebeveynleri arasında akrabalık öyküsü varlığı.
- C) L-tiroksin tedavi kesimi denenip kontrol TSH değeri 10 IU/L ve üzerine yükselen hastalar alındı.
- D) Subklinik hipotroidi tanısı ile izlenip, tedavi almaz iken TSH değerleri >10 IU/L devam eden hastalar.
- E) Konjenital hipotroidi tanısı ile izlenip, üç yaşını doldurmasına rağmen, L-tiroksin ihtiyacı > 2 µg /kg/gün olan ve tedavi kesimi bu nedenle denenmemiş olanlar.
- F) Konjenital hipotroidi tanısı ile birlikte guatrı olanlar.

Çalışma Dışlama Kriterleri;

1. Otoimmün tiroidit tanılı hastalar
2. Down Sendromu ve hipotiroidi birlikte olan hastalar
3. Disgenetik konjenital hipotiroidi hastaları
4. İzlemde ilacı kesilmiş ve TSH değeri en az 1 yıl boyunca <10 IU/L seyretmiş geçici hipotiroidi hastaları

Bu çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Endokrinoloji Bilim Dalı'nda takip edilmekte olan 31'i erkek 29'u kız toplam 60 çocuktan oluşan disgenetik ve otoimmün olmayan, kalıcı primer konjenital hipotiroidili hastalar dahil edildi. Hastaların demografik bilgileri retrospektif olarak hasta dosyalarından değerlendirildi. Dosyada kayıtlı bilgilerden cinsiyet, tanı yaşı, klinik bulgular (tedavi doz ihtiyaçları oksolojik veriler), laboratuvar incelemeleri (T3, T4, TSH, Tiroglobulin, idrarda iyot), ve görüntüleme yöntemleri (tiroid ultrasonografisi, tiroid sintigrafisi), ailede anne baba arası akrabalık ve birinci derece yakınlarında hipotiroidi hastalığı olup olmadığı öğrenildi. Çalışma öncesi hastalar bilgilendirildi ve bu çalışmaya katılmak üzere onamları alındı.

Hastalardan yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi ile tiroid hormon sentezinde yer genlerin varyasyon çeşitliliği ve sıklığı araştırıldı. Araştırma Pamukkale Üniversitesi Girişimsel olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu komitesince 14.01.2022 tarihinde 192.168.173.10 karar numarası ile kabul edildi.

Hasta sonuçları elde edildikten sonra, monoallellik varyant taşıyan hastaların ebeveynlerine segragasyon analizi planlandı. Kan vermeyi kabul eden ailelerden, tespit edilen varyant için segragasyon çalışması yapıldı.

4.2. Mutasyonlarının Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler

İlk olarak ticari periferik kandan DNA ekstraksiyon kiti (ZİXpress) kullanılarak kit üreticisinin talimatlarına göre DNA izolasyonu yapıldı. İzolasyondan sonra Qubit/Nanodrop cihazı ile spektrofotometrik olarak DNA miktar ve kalkitesi ölçüldü. Sonrasında ilgili hedef genlerin yeni nesil DNA dizi analizi için tespitine yönelik NGS kiti (*GLIS3, TSHB, THRA, THRB, PAX8, NKX2-5, NKX2-1, FOXE1, TSHR, SLC5A5, SLC26A4, TG, TPO, DUOX2, DUOX2, IYD, SLC26A7, DUOX1, ZNF607, SLC6A4, DIO1, DIO2, DIO3, TTR, GNAS, TRH, ALB, POR, TRHR, PHEX, SLC16A2, SERPINA7, IGSF1* genlerinden oluşan) kullanıldı ve üreticinin talimatlarına göre hedeflenmiş genlerin amplifikasyonu sağlandı. Uygulanan yöntem kabaca aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır. Hedef Yakalama Temelli NGS kitinin adımları aşağıda listelenmiştir.

- DNA Fragmentasyonu
- Purifikasyon
- DNA ucu onarımı (End repair)
- Purifikasyon
- A ucu takılması (A-tailing)
- Purifikasyon

- Adaptör ligasyonu
- Purifikasyon
- İndeks ile işaretleme
- Purifikasyon
- Prob Hibridizasyonu
- Streptavidin boncuk ile hedef kütüphanenin seçilmesi
- Hedef kütüphanenin amplifikasyonu
- Purifikasyon

DNA Fragmentasyonu: DNA, fragmentaz enzimi ile 37°C'de inkübe edildi. Amaç 150-250 bp uzunluğunda DNA fragmentleri elde etmektir.

Purifikasyon*: Purifikasyon işlemi manyetik boncuklar (Magnetik bead) ile yapılmaktadır. Manyetik boncuk çözeltisi kullanmadan 30 dk önce oda sıcaklığına çıkartılmalıdır. 2mL'lik konik dipli tüplere her örnek için manyetik boncuk dağıtıldı. Üzerine bir önceki inkübasyon adımından alınan DNA ürünleri eklendi. Vorteks ve spin yapıldı. Manyetik boncukların DNA'yı yakalaması için 5 dk oda sıcaklığında inkübasyon yapıldı. Tüpler manyetik standı yerleştirildi. Sıvı şeffaf olduğunda (3-5 dk) süpernatant pipetle alınıp tüpler manyetik standı üzerindeyken her tüpe 500 µL Etanol (%80) eklendi. 30 sn bekledikten sonra alkol atılıp bu işlem 2 kez tekrarlandı. Kalan alkolü temizlemek için spin yapıldı ve 10 µL pipetle tüm alkol temizlendi. Alkol tamamen uzaklaşmaya kadar bekledi (kurutma). (Manyetik boncuk tabakasının tamamen kuruyup çatlamamasına dikkat edildi) Tüpler standı üzerindeyken nükleaz içermeyen su eklendi. Tüpler standıtan alınıp, vorteks ve spin yapıldı. 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildi (Stand dışında). Standı tekrar yerleştirilip şeffaflaşınca standıtan çıkartmadan süpernatant yeni tüplere alındı. Elde edilen bu süpernatant sonraki adımda kullanıldı.

DNA Ucu Onarımı (End repair): Test kitinde bulunan End repair miksi üzerine bir önceki adımdan elde edilen DNA ürünü eklenir ve 20°C'de 30 dk inkübe edildi. Purifikasyon adımı tekrarlandı.

A Ucu Takılması (A-tailing): Bu adımda DNA fragmentlerinin ucuna adenilasyon yapıldı. Bu amaçla test kitinde bulunan A-tailing tüplerinin üzerine bir önceki purifikasyon adımından elde edilen DNA ürünü eklenip örnekler 30°C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.

Adaptör Ligasyonu: Bir önceki adımdan elde edilen DNA ürünü içeren süpernatant ligasyon tüplerine eklendi. Üzerine kitin içerisinde bulunan adaptör eklendi. 15 dk

20°C’de inkübasyon yapıp sonrasında USER enzimi eklendi ve 37°C’de 15 dk inkübe edildi. Purifikasyon adımı tekrarlandı.

İndeks ile İşaretleme: Dual indeks (ikili indeks) seti kullanıldı. İndeksler aynı anda birden fazla örneğin tek bir tüpte birleştirilmesi ve eş zamanlı sekanslanmasını mümkün kılan primer dizileridir. İ5 ve i7 olarak adlandırılan evrensel dual indeks sistemi kullanıldı. Bir önceki adımdan elde edilen DNA ürünü, KAPA Library Amplification Mix ve indeks primerleri ile oluşturulan reaksiyon karışımı PCR cihazına konulup kit kullanım kılavuzunda belirtilen PCR protokolü uygulandı. Purifikasyon adımı tekrarlandı.

Prob Hibridizasyonu: Kitin içerisinde bulunan Blok miks, Hibridizasyon miks ve Target Capture problemleri ile hibridizasyon reaksiyonu hazırlanıp örnekler ile gece boyu 65°C’de inkübe edildi.

Streptavidin Boncuk ile Hedef Kütüphanenin Seçilmesi: Hibridizasyondan alınan örnekler streptavidin boncuklar ile kitin içerisinde bulunan yıkama çözeltileri ile bir seri yıkama işleminden geçirildi. Elde edilen DNA ürünü hedef kütüphanede oluşturuldu.

Hedef Kütüphanenin Amplifikasyonu: Elde edilen hedef kütüphane PCR ile amplifiye edildi. Purifikasyon adımı tekrarlandı. Target Capture NGS kiti ile hazırlanmış indekslenmiş kütüphane Qubit ile kontrol edildi.

Yeni Nesil DNA Dizi Analizi

Kütüphane hazırlama basamakları tamamlandıktan sonra Illumina MiSeq yeni nesil DNA dizi analizi cihazı ile örneklere ait hedef genlerin DNA dizi analizi verileri elde edildi. Elde edilen veriler SEQ Genomize biyoinformatik programı ile değerlendirildi ve varyantların tespiti referans genoma göre yapıldı ve patojenisite skorlaması için ACMG 2015 kılavuzundan yararlanıldı (101).

5.BULGULAR

Çalışmaya 53 aileden 30'u erkek (%50,8), 29'u kız (%49,2); toplam 59 hasta alındı. Onaltı hastanın (%26,7) birinci derece akrabalarında; 12 (%20) hastanın ikinci ve üçüncü derece akrabalarında hipotiroidi öyküsü vardı. Yedi vakanın (%11,7) ebeveynler arası akrabalık mevcuttu. Yirmi hastanın (%33,3) L-tiroksin tedavisi kesimi sonrası TSH >10 saptanıp nüks kabul edilip tekrar tedavi başlama öyküsü mevcuttu.

ACMG sınıflamasına göre 59 hastanın 31'inde (%52,5) yapısal bir varyant gösterildi: 17 hastada klinik önemi bilinmeyen (VUS), 8 hastada muhtemelen patojenik ve 12 patojenik varyant saptandı. 6 hastada iki farklı gende, 1 hastada aynı gende 2 farklı varyant mevcuttu. Hastaların %22,6 sinde (7/31) *TSHR*, *TPO*, *DUOXA2* ve *SLC26A4* genlerinde biallelik varyantlar bulunurken, %77,4'ünde (24/31) *TSHR*, *TPO*, *DUOX1*, *DUOX2*, *THRB*, *SLC26A4* ve *TG* de monoallelik varyantlar tespit edildi. Oligojenik kalıttan bağımsız olarak *TSHR* geni kohortumuzdaki en yaygın olarak varyant saptanan gen idi (16/31). İkinci en sık varyant saptanan gen *TG* (7/31), diğer genler ise *TPO* (6/31) *SLC26A4* (3/31), *DUOX2*(2/31), *THRB* (1/31), *DUOX1* (1/31) *DUOXA2* (1/31) idi. *GNAS1*, *IYD* ve *NIS* genlerinde varyant saptamadık. Toplam 5 adet varyant bugüne kadar bildirilmemiş olup, novel olarak kabul edildi.

Herhangi bir genetik varyant saptadığımız 31 hastadan 16'si erkek 15'i kız (E/K:1,06) olup, çalışmaya alınan tüm hastaların ise 30'i erkek (%50,8) 29'u kız (%49,15) (E/K:1,03) idi. Ondört aileden segregasyon yapıldı, hepsinde materyal ya da paternal varyant gösterildi. Yirmisekiz adet hastanın (%90,4) varyantı hastalık etkeni olarak kabul edildi.

SLC26A4 geninde patojenik varyant saptanan 18 numaralı hastada Pendred sendromu ile uyumlu olarak işitme kaybı mevcuttu. Diğer hastalarda fenotipik değişim yoktu.

İki hasta hariç, tüm hastalar L-tiroksin tedavisi almaktaydı. Tedavisiz izlemde olan iki hastada (20 ve 31 numaralı) sırasıyla *TG* ve *DUOX2* genlerindeki varyantlar ACMG kriterlerine göre VUS olarak tanımlanmıştı. Yirmi numaralı hastada ilaç kesimi denenmiş fakat TSH:10,3 mU/L saptanmış nüks kabul edildiği için çalışmaya alınmıştı. Çalışma devam ederken ikinci kez ilaç kesimi denendi 1 yılı aşkın süredir ilaçsız izleme devam ediliyordu. Otuzbir numaralı hasta annesi ve babası arasında 2.derece akrabalık olması nedeni ile çalışmaya alınmıştı, iki yıldır ilaçsız izlemde idi.

Fizik muayenede guatr saptanan vakamız yoktu fakat ultrasonografik olarak 18 ve 29 numaralı hastaların tiroid USG değerlendirmesinde tiroid hacimleri SDS sırasıyla 3,69 ve 3,62 olarak saptandı. *TSHR* varyantı saptanan hastalardan 3-4-5 numaralı hastalar kardeş olup anne baba arası akrabalık mevcuttu. Bu hastalarda biallelik *TSHR* varyantı saptanması sonrası

tekrarlanan USG ile hesaplanan tiroid hacimlerinin SDS'leri sırası ile -2,39 , -3,29 , -3,33 olduğu görüldü ve hipoplazik olarak yorumlandı. Diğer olgularda tiroid USG değerlendirmeleri normal olarak saptandı.

Varyant saptadığımız 31 çocuk için demografik ve tanı anı TSH, T4 verileri Tablo 2'de genotipik veriler ve kalıtım ise Tablo 3'de gösterilmektedir.

TABLO 2: Dishormonogeneze bağlı konjenital hipotiroidili hasta kohortunun klinik özellikleri

Hasta No	Cinsiyet	Akrabalık	Tanı Yaşı	Son Yaş	Tanı fT4 (ng/dl)	Tanı TSH (Mu/L)	Tanı Tg (ng/ml)	L-T4 Dozu (mcg/kg/gün)	USG	Gen	Ailede Hipotiroidi	Çalışmaya Alınma Kriteri
1	E	Yok	-	13	-	-	-	1,82	Sağ lob 10x10x13mm, sol lob10x11x13 mm SDS:-1,05	<i>TSHR</i>	3 tane halada hipotiroidi	C
2	K	Yok	2 ay	8	0,87	14,3	13,3	1,19	Sağ lob 8x11 mm, sol lob 8x10	<i>TSHR</i>	-	C
3	K	Var	6 gün	7	0,60	>100	-	2,26	sağ lob 6x5x11 mm, sol lob 5x4x10 mm SDS:-2,39	<i>TSHR</i>	3 kardeş KH tedavi alıyor	A+B
4	K	Var	-	20	-	-	-	1,7	sağ lob 7x5x15 mm, sol lob 6x5x14 mm SDS :-3,29	<i>TSHR</i>	3 kardeş KH tedavi alıyor	A+B
5	E	Var	-	17	-	-	-	1,81	sağ lob 5x4 mm, sol lob 6x5x16 mm SDS:-3,33	<i>TSHR</i>	3 kardeş KH tedavi alıyor	A+B
6	K	Yok	-	8	-	-	-	1,14	normal boyutta	<i>TSHR</i>	hala, teyze ve kardeşte hipotiroidi	A
7	K	Yok	-	11	-	-	-	1,39	sağ lob:12,8x29 mm sol lob:11,2x29 mm	<i>TSHR</i>	annede hipotiroidi	A
8	E	Yok	49.gün	10	1,34	15,3	48	1,76	Normal boyut	<i>TSHR</i>	-	C
9	E	Yok	45.gün	8	1,77	16,1	-	1,35	Sağ lob 12x9x29 mm, sol lob 12x7x24 mm SDS:-0,77	<i>TSHR</i>	annede hashimato	C
10	E	Yok	10.gün	5	0,84	42,9	10,6	2,57	sağ lob 7*6*18 mm, sol lob 8,5*9*17 mm SDS:-0,79	<i>TSHR</i> <i>DUOXA2</i>	-	C
11	E	Yok	2 yaş	5	0,95	12,6	24,9	3,2	sağ lob 7x10 mm, sol lob 7.5x10 mm	<i>TSHR</i>	-	D+E
12	K	Yok	10.gün	3	1,16	45,1	-	2,71	sağ lob 7*8 mm, sol lob 7*8 mm	<i>TSHR</i>	-	E
13	E	Yok	7 yaş	13	1,16	9,4	-	1,76	sağ lob 10*10 mm, sol lob 8*8mm	<i>TSHR</i>	nenede hipotiroidi	D

14	K	Yok	34.gün	8	1,58	8,8	10	2,17	sağ lob 10x8mm sol lob 7x6,5mm	<i>TSHR</i> <i>TG</i>	annede hashimato	E
15	K	Yok	12.gün	2	0,53	131	1814	2,12	Sağ lob 7*6,5mm, sol lob 7*7 mm	<i>TSHR</i>	-	E
16	E	Yok	3.gün	1	0,66	127	1744	2,62	sağ lob 11x9.5 mm,sol lob 10.5x9 mm	<i>SLC26A4</i>	kardeşte, hala ve teyzede hipotiroidi	A
17	K	Yok	-	8	-	-	-	2,45	sağ lob 14x10 mm, tiroid sol lob 13x9 mm	<i>SLC26A4</i> <i>TG</i>	anne ve ablada KH	A
18	E	Yok	4.gün	8	0,62	25,4	-	1,29	sağ lob 11x10x26 mm, sol lob10x9x23 mm SDS :3,69	<i>SLC26A4</i>	-	F + iştme kaybı
19	K	Yok	-	5	0,41	>150	-	3,27	-	<i>THRB</i>	annede hipotiroidi	A
20	E	Yok	-	10	-	-	-	İlaçsız izlem	sağ lob 7x6mm, sol lob 7x5mm	<i>TG</i>	-	C İkinci kesme başarılı
21	E	Yok	-	15	-	-	-	1,18	sağ lob 8x6x21 mm, sol lob 9x5x20 mm SDS: -0,91	<i>TG</i>	-	C USG troidit lehine
22	K	Yok	20.gün	4	0,74	206,6	>300	3,1	sağ lob 5x4 mm, sol lob 5,5x5 mm	<i>TG</i>	-	E
23	E	Var	47.gün	3	1,88	15,15	-	1,83	sağ lob 7x6x15mm, sol lob 6x6x14 mm SDS:-0,72	<i>TG</i> <i>TPO</i>	erkek kardeşte KH	A
24	E	Var	2.ay	12	-	-	-	1,52	sağ lob12x10x25 mm, sol lob 9x11x26 mm SDS:0,16	<i>TG</i> <i>TPO</i>	erkek kardeşte KH	A
25	K	Var	15gün	14	0,4	725	-	3,57	Normal boyutta + nodül	<i>TPO</i>	kardeşte KH	A
26	E	Var	8.gün	1	0,17	669	745	3,4	sağ lob 9x10 mm, sol lob 10,5x9,5 mm	<i>TPO</i>	kardeşte KH	A
27	E	Yok	-	12	-	-	-	3	sağ lob 11x12x28 mm, sol lob 12x8x25 mm SDS :-1,11	<i>TPO</i>	kardeşte KH	A

28	K	Yok	2 yaş	14	-	-	-	3,65	sağ lob 15x11x35 mm, tiroid sol lob 12x10x33 mm SDS:0,04	<i>TPO</i>	kardeşte KH	A
29	K	Yok	22.gün	2	0,4	85	2497	1,56	sağ lob 11x10x19 mm, sol lob 11x8x18 mm SDS:3,62	<i>DUOX1</i>	-	F
30	E	Yok	-	9	-	-	-	1,59	Sağ lob 8x8,2x22 mm, sol lob 8x7x22 mm SDS:-1,17	<i>DUOX2</i> <i>TSHR</i>	-	C
31	K	Var	23.gün	6	0,25	244,9	>300	-	sağ lob 7.5x9x20 mm, sol lob 7.5x7.5x20 mm SDS:-0,48	<i>DUOX2</i>	-	B

E: Erkek K :Kız f-T4: Serbest T4 T4 referans aralığı 0,98-1,63 ng/Dl, TG:Tiroglobulin Tiroglobulin (TG) Referans aralığı:3,5-77 ng/ml.

KH:Konjenital hipotiroidi TSH:Tiroid Stimulan Hormon TSH referans aralığı:0,51-4,30 mU/L TSHR: Tiroid Stimulan Hormon Reseptörü

DUOX2: Dual Oksidaz 2 Reseptörü SLC26A4: Pendrin THRB: Tiroid Hormon Reseptör Beta TPO: Tiroid Peroksidaz DUOX1: Dual

Oksidaz 1 DUOX2: Dual Oksidaz 2

Kardeş hastalar; 3-4-5, 6-16, 23-24, 25-26 ve 27-28 numaralı hastalar kardeş.

TABLO 3: Dishormonogenetik Konjenital Hipotiroidi tanısı konan 31 çocuk için genotipik veriler ve kalıtım.

HASTA NO	GEN	EXON İNTRON	NÜKLEOTİD	PROTEİN	dbSNP	ACMG Kanıt Kodu	Patojenite	Anne Genotip	Baba Genotip
1-M.B.K	<i>TSHR</i> <i>TSHR</i>	E11 E4	c.1954 C>G c.267_270del	p.Pro652Ala(Het) p.Gln90Pro(Het)	rs761428348 rs1064794318	PM2+PP3 PP5+PM2	VUS LP	- -	- -
2-A.Ç	<i>TSHR</i>	E11	c.1349 G>A	p.Arg450His(Het) R450H	rs189261858	PM2+PP3	P	-	-
3-M.N.T	<i>TSHR</i>	E11	c.1422 C>A	p.Asp474Glu(Homo) D474E	-	PM2+PP3	VUS	-	-
4-Ö.T	<i>TSHR</i>	E11	c.1422 C>A	p.Asp474Glu(Homo) D474E	-	PM2+PP3	VUS	-	-
5-Y.E.T	<i>TSHR</i>	E11	c.1422 C>A	p.Asp474Glu(Homo) D474E	-	PM2+PP3	VUS	-	-
6-S.M	<i>TSHR</i>	E3	c.202C>T	p.Pro68Ser(Het) (P68S)	rs142063461	PM2+PP3	LP	-	-
7-E.Ö	<i>TSHR</i>	E6	c.406_407 del frameshift	p.Thr136Trpf(Het) (T136Wfs*3)	-	PVS1+PM2	LP	<i>TSHR</i> c.406_407 del heterozigot anne hasta	WT
8-S.S.D	<i>TSHR</i>	E11	c.1222 T>C	p.Cys408Arg(Het) C408R	rs199702292	PM2+PP3	LP	WT	<i>TSHR</i> c.1222 T>C, heterogot, sağlıklı
9-G.Ö.B	<i>TSHR</i>	E11	c.1825 C>T	p.Arg609Ter(Het) R609*	rs763679435	PVS1_Strong+P M2	LP	WT, Hashimoto	<i>TSHR</i> c.1825 C>T heterozigot sağlıklı
10-A.D	<i>TSHR</i> <i>DUOXA2</i>	E11 E5	c.1349 G>A c.738 C>G	p.Arg450His(Het) R450H p.Tyr246Ter(Het)	rs189261858 rs4774518	PM2+PP3 PP5_Moderate+ PVS1_Strong+P M2	P P	<i>TSHR</i> c.1349 G>A heterozigot	WT
11-A.R.Ç	<i>TSHR</i>	E11	c.1349 G>A R450H	p.Arg450His(Het)	rs189261858	PM2+PP3	P	-	-

12-M.S	<i>TSHR</i>	E3	c.202C>T P68S	p.Pro68Ser(Het)	rs142063461	PM2+PP3	LP	-	-
13-S.Ç	<i>TSHR</i>	E2	c.3G>A	p.Met1?(Het)	rs1331241644	PVS1_Supportin g+PM2+PP3	VUS	WT, sağlıklı	<i>TSHR</i> c.3G>A heterozigot baba hasta
14-A.C	<i>TSHR</i> <i>TG</i>	E11 i5	c.1349 G>A c.638+5 G >A	p.Arg450His(Het) R450H p?(Het)	rs189261858 rs774274702	PM2+PP3 PM2	P VUS	-	-
15-E.A	<i>TSHR</i>	E2	c.122G>C C41S	p.Cys41Ser (het)	rs121908869	PM2	VUS	-	-
16-M.L.M	<i>SLC26A4</i>	E5	c.441 G>A	p.Met147Ile(Het)	rs201905280	PM5_supportin g+PP3	VUS	<i>SLC26A4</i> c.441 G>A Heterozigot, sağlıklı	WT
17-Z.G	<i>SLC26A4</i> <i>TG</i>	E9 i5	c.1102 G>A c.638+5 G>A	p.Gly368Arg (Het) p?(Het)	- rs774274702	PM2+PP3 PM2	VUS VUS	<i>SLC26A4</i> c.1102 G>A heterozigot hasta	WT
18-M.C.K	<i>SLC26A4</i>	E9	c.1334 T>G	p.Leu445Trp (Homo)	-	PP3+BP4	P	-	-
19-F.K	<i>THRB</i>	E5	c.50 C>G	p.Pro17Arg (Het) p. P17R	-	PM2+PP2+BP4	VUS	<i>THRB</i> c.50 C>G P17R --Hasta	WT
20-R.B	<i>TG</i>	i7	c.890-5T>C	P? (Het)	-	PM2	VUS	WT	<i>TG</i> c.890-5T>C heterozigot sağlıklı
21-M.U	<i>TG</i>	i5	c.638+5 G>A	P? (Het)	rs774274702	PM2	VUS	WT, sağlıklı	<i>TG</i> c.638+5 G>A heterozigot Sağlıklı
22-M.A.A	<i>TG</i>	E4	c.455 G>A	p.Arg152His(Het)	rs114781869	PM2+PP3	VUS	WT, sağlıklı	<i>TG</i> c.455 G>A sağlıklı
23-M.E.G	<i>TG</i> <i>TPO</i>	E4 E2	c.455 G>A c.71C>A	p.Arg152His(Het) p.Ser24Ter (Het) STOP GAINED	rs114781869 rs781708047	PM2+PP3 PVS1+PM2	VUS LP	WT	<i>TG</i> c.455 G>A Sağlıklı
24-H.G	<i>TG</i> <i>TPO</i>	E4 E2	c.455 G>A c.71C>A	p.Arg152His(Het) p.Ser24Ter(Het) STOP GAINED	rs114781869 rs781708047	PM2+PP3 PVS1+PM2	VUS LP	WT	<i>TG</i> c.455 G>A sağlıklı
25-M.Ç	<i>TPO</i>	E10	c.1618 C>T	p.Arg540Ter (Homo)	rs121908082	PP5_Moderate+	P	<i>TPO</i> c.1618 C>T	<i>TPO</i> c.1618 C>T

				R540*		PVS1+PM2		heterozigot hasta	heterozigot sağlıklı
26-Y.A.Ç	TPO	E10	c.1618 C>T	p.Arg540Ter (Homo) R540*	rs121908082	PP5_Moderate+ PVS1+PM2	P	TPO c.1618 C>T heterozigot sağlıklı	TPO c.1618 C>T heterozigot sağlıklı
27-M.B	TPO	E10	c.1618 C>T	p.Arg540Ter (Homo) R540*	rs121908082	PP5_Moderate+ PVS1+PM2	P	-	-
28-İ.B	TPO	E10	c.1618 C>T	p.Arg540Ter (Homo) R540*	rs121908082	PP5_Moderate+ PVS1+PM2	P	-	-
29-M.İ	DUOX1	E25	c.3098del	p.Gln1033Arg(frame shift) (Het) Q1033Rfs*118	-	PM2+PVS1	VUS	DUOX1 c.3098del frameshift hasta	WT, sağlıklı
30-C.A.A	DUOX2 TSHR	E13 E11	c.1462G>A c.1349 G>A	p.Gly488Arg (Het) p.Arg450His (Het) R450H	rs191759494 rs189261858	PP5_Moderate+ PP3 +PM2 PP3 +PM2	P P	- -	- -
31-B.O	DUOX2	E5	c.422 A>G	p.Asp141Gly (Homo) D141G	rs1359990966	PM2+BP4	VUS	-	-

E:Exon, İ:İntron, WT:wild type, Homo:homozigot; Het:heterozigot, P:Patojenik, LP:Muhtemel Patojenik, VUS:Önemi Belirsiz Varyant, TG:tiroglobulin, TPO:Tiroid Peroksidaz, DUOX2: Dual Oksidaz 2, TG:Tiroglobulin, KH:Konjenital hipotiroidi, TSH:Tiroid Stimulan Hormon, TSHR: Tiroid Stimulan Hormon Reseptörü, SLC26A4: Pendrin, THRB: Tiroid Hormon Reseptör Beta, TPO: Tiroid Peroksidaz, DUOX1: Dual Oksidaz 1

6. TARTIŞMA

Yeni nesil dizileme teknolojisinin ortaya çıkışı ile KH'nin genetiği üzerine yapılan çalışma sayısı da artmıştır. KH ile ilgili mevcut kılavuzlar, genetik testlerin hastaların teşhisi, tedavisi veya prognozu iyileştirmesi amaçlanarak yapılması gerektiğini belirtmiştir.

Mevcut kılavuzlar, serum serbest fT4 konsantrasyonunun azalması ve TSH'nın önemli ölçüde artması durumunda levotiroksin (L-T4) tedavisine derhal başlanmasını önermektedir. Ancak, subklinik hipotiroidi veya ılımlı izole hipertirotropinemi olarak adlandırılan, serum TSH'ı yüksek ve fT4'ü normal olan KH için, L-T4 tedavisi gerekliliği tartışmalı olmaya devam etmektedir. Bazı TSHR veya DUOX2 varyantları, ılımlı veya geçici subklinik hipotiroidiye neden olmakta olup, bu hastaların tedavisi tartışmalıdır. Bu durumun uzun vadeli sonuçları hakkında sınırlı veri mevcuttur ve ek tiroid hormonu tedavisi ihtiyacı konusunda fikir birliği yoktur (102-105). Yeni teknolojik gelişmeler sonrası KH'ye neden olan genetik nedenleri aydınlatmak için yeni nesil dizi analizi gibi kapsamlı, ulaşılabilir genetik yöntemler mevcuttur. Bu hastaların uzun dönem tedavi yönetimleri yapabilmek, hastalığın genetik etiyolojisini aydınlatmak adına seçili hastalarda genetik tarama faydalı olabilir.

KH'li hastalarda genetik etiyolojiye yönelik dünya çapında yapılan birçok çalışma, kohortun etnik kökenine ve dahil edilme kriterlerine bağlı olarak farklı genlerde, farklı varyant oranları bildirmiştir. Bu farklılığa neden olan faktörler arasında hasta seçim kriterleri (disgenezi, dishormonogenez, geçici/kalıcı hipotiroid), irksal farklılıklar ve varyantların yorumlanmasındaki değişiklikler yer almaktadır.

Çinliler, Japonlar ve Koreliler gibi Asyalılar üzerinde yapılan çalışmalar, seçilmiş hastalarda %24-90,5 arasında değişen varyant saptama oranları bildirmiştir ve bu ülkelerde en yaygın genetik neden olarak da *DUOX2*, *TPO* ve *TG* genleri raporlanmıştır (81, 106-110).

Türk hastalar dahil, Kuzey Afrikalı ve Kafkas halkından oluşan, gland in situ hipotiroidili hastalarda yapılan çalışmalarda mutasyon tespit oranı %59 ile %73 arasındadır (1, 111-113).

Mevcut çalışmamızda, dishormogenezden sorumlu konjenital hipotiroidileri dahil ettiğimiz kohortumuzda varyant saptama sıklığımız %52,5 olarak bulundu. Bu değer ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan (113) düşük olup, kohortumuzun sadece dishormonogeneze bağlı KH'dan oluşmuş olmasına, bölgemizde akraba evliliği oranının görece düşük olmasına bağlı olabilir.

TSHR

Çalışma grubumuzda en sık varyant saptadığımız gen *TSHR* idi. Otuzbir hastanın 16 (%51,6) tanesinde varyant *TSHR* saptandı. İnaktive edici *TSHR* mutasyonlarının prevalansı

popülasyonlar arasında farklılık göstermekte olup, seçilen klinik kriterlere dayalı olarak, %4,3-%29 arasında rapor edilmiştir (7, 114-116). Ulusal ve Türk kökenli hastaların dahil edildiği çalışmalarda *TSHR*'de patojenik varyant saptanma oranı % 2,04-3,28 olarak verilmiştir.

Bu çalışmalarda en sık saptanan varyant çalışmamıza benzer şekilde c.1349 G>A (R450H), c.1422 C>A (D474E) olarak bildirilmiştir. c.1349 G>A (R450H) varyantı, hem subklinik, hem de şiddetli KH'e neden olabilmekte olup, kliniği tutarsızdır (111, 113, 117).

Chang ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada *TSHR* mutasyonuna sahip KH hastalarının sağlıklı bireylere göre çok daha yüksek serum TSH seviyelerine sahip olduğunu; bununla birlikte, heterozigot ve homozigot *TSHR* p.R450H hastaları arasındaki serum TSH seviyelerindeki farkının önemsiz olduğunu bildirmiştir (118). Bu çalışmada, *TSHR* p.R450H heterozigot varyantına sahip bireylerin asemptomatik olduğunu ve nispeten daha hafif bir klinik gösterdiğini bildirmişler (118). Kanda ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (119), *TSHR* R450H mutasyonu için homozigot veya heterozigot olan hastaların subklinik veya hafif hipotiroidizm ile presente olduğu, R450H için heterozigot olan hastalarda, kalıcı orta hipertirotropinemi, tamamen veya kısmen kompanse edilmiş hipotiroidizm kliniği bildirilmiştir. TSH reseptörünün işlevinin bozulma derecesi veya yaşla birlikte tiroid hormon gereksinimlerinin değişmesi gibi çeşitli faktörlerin, *TSHR* gen mutasyonlarının heterozigot taşıyıcıların neden ötiroidden hafif hipotiroidizme kadar çeşitli fenotipler gösterdiklerini açıklamaya yardımcı olan faktörler olarak bildirilmiştir (119). Benzer şekilde, Japonya ve Çinden yapılan çalışmalarda *TSHR* heterozigot p.R450H varyantına sahip bireylerin ılımlı hipotroidi ile presente olduğu ve tiroid hipoplazisi gözlemlenmediği bildirilmiştir (114-120)

Biallelik *TSHR*'de tiroid hipoplazisi beklenen bir durumdur. Ancak Narumi (114), homozigot p.R450H varyantı taşıyan bir olguda tiroid hipoplazisi bildirilmemiş, aynı çalışmada bir allelede p.R450H, diğer allelede p. G132R varyantı taşıyan başka bir olguda ılımlı tiroid hipoplazisi raporlamıştır. Bu durum, varyantların klinik ve morfolojik etkilerinin farklı olabileceğini düşündürmüştür. Bizim kohortumuzda ki iki vaka ılımlı subklinik hipotroidi olup literatürdeki vakalar ile benzer özelliklere sahiptir.

Bir numaralı hastamızda *TSHR* geninde 2 farklı varyant tespit edildi (*TSHR* c.1954 C>G ve c.267_270del). Tedavi kesimi denenmiş fakat TSH:13,5 mU/L, fT4:1,42 ng/dL saptanması üzerine nüks kabul edilip tekrar tedavi başlanmıştı. Literatürde birleşik heterozigot *TSHR* mutasyonuna sahip vakalar bildirilmiş olup, (36, 120, 121) ancak bu iki varyantın birlikte olduğu bir vaka bulunamadı. Anne ve babasında klinik ve laboratuvar tetkikleri olağan olduğu ama hastamızın tedavi gerektirecek hipotiroidisi olması ve tedavi kesim sonrası

nüks olması birleşik heterozigot *TSHR* varyantlarının klinik şiddetinin heterozigot olanlara göre daha şiddetli olabileceğini düşündürdü.

Bir aileden 3 kardeşte, homozigot *TSHR* c.1422 C>A (D474E) varyantı tespit edildi. Bu hastalarda yapılan ilk tiroid USG'de tiroid loblarının iki boyutu değerlendirilmiş, *TSHR* varyantı saptanması sonrası tekrarlanan USG ölçümünde hesaplanan tiroid hacimleri hipoplazik olarak raporlanmıştır. Hastanın anne ve babasında hipotiroidi kliniği yoktu, TSH ve T4 değerlerinin olağan olduğu öğrenildi. Kosugi ve ark tarafından yapılan bir çalışmada (122) D474E varyantın TSH ve TSA b ile stimüle edilmiş cAMP yanıtını bozduğu bildirilmiştir. *TSHR* homozigot mutasyonlarında tiroid bezi hipoplazisi olmaktadır (123). Hastaların kliniği, homozigot *TSHR* mutasyonlarında görülen klinik ile uyumluydu. Hastalarımızdaki *TSHR* c.1422 C>A (D474E) homozigot varyantın şiddetli konjenital hipotiroidi ve tiroid hipoplaziye neden olduğu düşünüldü.

TSHR c.202 C>T (P68S) varyantı olan iki hasta saptandı. Altı numaralı hastanın tanı anı verisi bilinmiyordu fakat ilaç ihtiyacı düşük seyrediyordu. Oniki numaralı hastanın ise ilaç ihtiyacı yüksek idi. Racover ve ark. yaptığı bir çalışmada *TSHR* geninde fonksiyon kaybı mutasyonu araştırılmış, çalışmada P68S heterozigot olan 3 hasta bildirilmiş, bu varyantın sıklığı %0,9 saptanmıştır (37). Racover, P68S heterozigot varyantının, vakalarda hafif TSH yükselmesine neden olduğunu ve fonksiyon kaybına yol açtığını bildirilmiştir (37). Bizim hastalarımızın kliniği de literatürde bildirilen vakalar ile benzer olup, P68S varyantı hastalık etkeni olarak kabul edilmiştir.

Çalışmamızda, heterozigot *TSHR* varyantına sahip 3 tane hastada 2 farklı gende varyant saptadık; 10 numaralı hastada *TSHR* ve *DUOXA2* geninde varyant mevcut olup, tedavi kesilince TSH değeri 15 IU/L'e çıktığı için nüks kabul edilmişti. Anne ve babasından Sanger sekansı analiz yapıldı; annesi *TSHR* için heterozigot saptandı. Annenin, klinik şikayeti olmayıp ılımlı subklinik KH ile izlenmekteydi (TSH: 8-9 IU/L). Annesinin tedavi gerektirmeyecek derecede TSH yüksekliği ile takip edildiği düşünüldüğünde heterozigot *TSHR* ve *DUOXA2* varyantının beraber bulunması bu iki genin tek başına heterozigot varyant bulunduğu vakalara göre daha şiddetli klinik oluşturmuş olabileceğini düşündürmektedir.

Ondört numaralı hastada birleşik heterozigot *TSHR* ve TG varyantları mevcuttu. Subklinik KH tanısı alıp, ilaç ihtiyacının >2 mcg/kg/g olması nedeni çalışmaya alınmıştı. Otuz numaralı hastada birleşik heterozigot *TSHR* ve *DUOX2* varyantı saptandı. Tanı anı laboratuvar değeri mevcut olmayan hastanın, tedavi kesilince TSH: 13 IU/L olması nedeni nüks kabul edilmişti. Ogasawara ve ark yaptığı bir çalışmada *DUOX2* c.1462G>A mutasyonuna sahip iki hastada bu mutasyonun kısmi bir işlev bozukluğuna yol açtığını

düşünmüş ve çalışmaya alınan hastaların hipotiroidizmin olası nedeni olduğu bildirilmiştir (124). Literatürde, bu iki varyantların birlikte olduğu başka vakaya rastlanılmamıştır ancak birleşik heterozigot vakaların, monoallelik varyanta sahip olgulara göre daha ağır klinik ile seyrettiği bilinmektedir.

SLC26A4

SLC26A4 geni, pendrin olarak bilinen bir anyon taşıyıcısı kodlar ve Pendred sendromunda mutanttır. İzole işitme kaybı yapabileceği gibi guatr da eşlik edebilir. Üç hastamızda *SLC26A4* heterozigot varyant saptandı.16 numaralı hastanın kardeşinde ve halasında hipotiroidi mevcuttu. Sanger sekansı ile anne ve baba çalışmasında ise annesinde *SLC26A4* de C.441 G>A varyantı vardı maternal klinik ve TSH, T4 olağan idi. Bu nedenle bu varyant VUS kabul edildi.

Onyedinci numaralı hastada *SLC26A4* ve *TG* de heterozigot varyant vardı, anne ve ablada hipotiroidi nedeni ile LT4 kullanımı mevcuttu. Sanger sekansı sonuçlarında maternal *SLC26A4* C.1102 G>A heterozigot saptandı. Literatürde bu varyant VUS olarak bildirilse de hastamız ve annesinde klinik ve genetik beraber olması olası hastalık etkeni (patojen) olabileceğini düşündürdü.

SLC26A4 c.1334 T>G homozigot varyantı mevcut olan, 18 numaralı hastamız sensorinöral işitme kaybı nedeni ile işitme cihazı kullanıyordu, guatrı ve büyüme gelişme geriliği vardı. Tanı anında aşikar hipotiroidisi olan olgunun izlemde ilaç ihtiyacı 1,2 mcg/kg/gün olarak devam etmekte idi. Muayanesinde guatr saptanmamıştı fakat tiroid USG guatr ile uyumlu idi. Bu hasta Pendred sendromu kabul edildi. c.1334 T>G (L445W) varyantı ile ilgili çok sayıda literatür mevcuttur. Sayeb ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (125), *SLC26A4* c.1334 T>G varyantı ve işitme kaybı birlikteliği olan bir vaka bildirilmiştir. Jonard ve ark. çalışmasında (126), sendromik olmayan tek taraflı işitme kaybı olan vakalarda *SLC26A4* c.1334 T>G varyantı bildirilmiş ancak bu varyanta sahip literatürdeki vakalarda KH veya guatr tanımlanmamıştır. Hastamız bu yönü ile farklılık arz etmektedir. Hastanın klinik ve genetik bulguları göz önüne alınarak patojen varyanta sahip olduğu düşünüldü.

THRB

Bir hastamızda *THRB* c.50 C>G (P17R) heterozigot varyant saptadık. Hastanın tanı TSH >150 IU/L, fT4:0,41ng/dL idi. Sanger sekansı ile yapılan segregasyon analizinde annede de aynı varyant heterozigot olarak vardı. *THRB* c.50 C>G (P17R) heterozigot varyantına daha önce bildirilmemiş olup, in silico analizlerde VUS olarak raporlanmaktadır ancak annede de hipotiroidi olması, bu varyantın hastalık etkeni olabileceğini düşündürtse de, daha önce tanımlanan bir hasta olmaması nedenli tartışmalıdır.

TG

TG c.890-5T>C varyantı, literatürde saptanmadı. In-silico analizlere göre VUS olarak değerlendirildi. Mevcut varyantı taşıyan 20 numaralı vakamızın tanı anı TSH ve T4 değerleri bilinmemekte idi. L-T4 tedavisini ilk kesme denemesi sonrası nüks kabul edilmesi nedeni ile çalışmaya dahil edilmişti ancak izleminde ikinci kez yapılan tedavi kesme denemesi ise başarılı idi. Paternal *TG* c.890-5T>C heterozigot varyantı saptandı fakat babasında klinik bulgu yoktu. Bu nedenlerle, bu varyant hastalık etkeni (disease causitive) olarak kabul edilmedi.

TG c.638+5 G>A varyantı, daha önce literatürde bildirilmiş olup, ülkemizden de bir heterozigot vaka vardır (113) . Nicholas ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada homozigot *TG* c.638+5 G>A saptanan iki kardeşte hafif bir KH fenotipi bildirilmiştir. (111). Hastamızın tanı anı TSH ve T4 verileri yoktu, ilaç ihtiyacı düşük seyrediyordu ve tiroid boyutları olağan idi. Babasında da *TG* c.638+5 G>A heterozigot varyantı tesbit edilmişti fakat babasında hipotiroidi kliniği yoktu. Literatürde bu varyanta sahip olguların uzun dönem izlemi, yaşları ve ilaç ihtiyaçları hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenlerle, varyant hastalık etkeni (disease causitive) olamayabileceği ya da transient konjenital hipotiroidi nedeni olabileceği düşünülmüştür.

TG c.445 G>A varyantı, literatürde ağır konjenital hipotiroidililerden oluşan bir kohortta iki ayrı vakada bildirilmiştir (127). Vakalardan biri monoallelik diğeri oligogenik kalıtım paternine sahiptir. Monoallelik varyanta sahip olan olgunun tiroid bezi normal olup, oligogenik mutasyonu olan olgunun guatrı olduğu raporlanmıştır. Bizim hastamızda aşikar hipotiroidi vardı ve ilaç ihtiyacı 3,1 mcg/kg/gündü. Babasında *TG* c.445 G>A heterozigot varyantı mevcuttu fakat hipotiroidi kliniği yoktu. Literatürde bu varyanta sahip olgular hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Mevcut varyant ile ilgili vaka sayısı az olduğu için, bu varyantın hastalık etkeni olarak kabul edilip edilmeyeceği konusunda daha çok veriye ihtiyaç vardır. DUOX2 mutasyonlarında olduğu gibi, bu varyant da geçici hipotroidi yapabileceği ihtimali de göz önünde bulundurulmalıdır.

Yirmiüç ve yirmidört numaralı hastalar kardeş idi ve her ikisinde *TG* (c.455 G>A) ve *TPO* (c.71C>A) heterozigot varyantı mevcuttu. Hastaların babasında da *TG* geninde aynı heterozigot varyant mevcut idi fakat babanın tiroit fonksiyon testleri normaldi. Aynı genetik durum 22 numaralı hastada da mevcuttu. Her iki hastanın babalarında klinik olmaması nedeniyle, bu varyantın hastalık etkeni olamayacağı ya da geçici hipotroidiye yol açabileceği düşünüldü.

Literatürde, bu varyanta sahip olguya rastlanmadı. In silico analizlerde LP olarak bildirilmesi nedeniyle hastalarının mevcut kliniği *TPO* varyantı ile ilişkili olduğu düşünüldü.

TPO

Yirmibeş-yirmialtı ve 27-28 numaralı hastalar iki ayrı çift kardeş idi ve bu hastalarda homozigot *TPO* varyantı mevcuttu. 25 ve 26 numaralı kardeşlerde tanı TSH değerleri 725-669 IU/L, fT4 değerleri 0,4-0,17 ng/dL olup vaka serimizde saptadığımız en yüksek TSH değerlerine sahiptiler. Cangül ve arkadaşları *TPO* c.1618 C>T (R540*) homozigot varyantı saptanan 2 kardeşlerde şiddetli KH bildirmişlerdir (117). Bu varyantın bir durdurma kodonuna ve ortaya çıkan enzim molekülünün 540. kalıntıda kesilmesine (R540X) yol açtığı saptanmıştır (117). Hastalarımızdaki mevcut klinik, literatür ile uyumlu olup, *TPO* homozigot varyant ile ilişkili bulunmuştur.

DUOX1—DUOX2

DUOX varyantı saptanan üç hastadan, 1 tanesi homozigot 2 tane heterozigottu. 29 numaralı hastamızda *DUOX1*(c.3098 del) varyantı çerçeve kayma mutasyonu yapmıştı, Sanger sekansı ile annede de aynı varyant gösterildi. Anne çocukluğundan beri hipotiroidi tanısı ile tedavisi almakta idi. Bu *DUOX1* varyantı VUS olarak bildirilmiş olsa da hasta ve annesinin klinik ve genetik sonucu göz önüne alınarak, varyantın patojen olduğu düşünüldü. Literatürde bu varyanta sahip olgu bildirimine rastlanmadı.

Bir hastamızda *DUOX2* c.1462G>A (p.G488R) ve *TSHR* (30 numaralı hasta) birleşik heterozigot varyantı vardı. Literatürde, *TSHR* varyantının hem subklinik hem de aşikar hipotroidi kliniğine yol açabildiği mevcuttu. *DUOX2* c.1462G>A için literatür tarandığında, bu varyantın özellikle uzak doğu ülkelerinde görece sık görüldüğü tespit edilmiştir. Biallelik *DUOX2* c.1462G>A varyantı taşıyan olguların, yenidoğan döneminde ağır hipotroidi laboratuvarı ile tanı aldığı ve hipotroidinin transient olduğunu bildirmişlerdir. (124, 128). Park ve arkadaşlarının (129), Kore popülasyonunda KH tanılı iki grup hastada (yenidoğan döneminde olanlar ve çocukluk çağında olup tedavi ile izlenenler) yaptığı bir çalışmada *DUOX2* c.1462G>A (p.G488R) heterozigot 4 hasta bildirilmiş, bu vakaların tanı TSH değerlerinin 0,03-23 mU/L arasında olup, fT4 değerleri 0,84-0,89 ng/dL, tiroid morfolojileri olağan olarak raporlanmış, bu veriler de *DUOX2* c.1462G>A'nın subklinik hipotroidiye yol açtığını desteklemiştir. Aynı çalışmada, yenidoğan grubunda ise 6 hasta *DUOX2* c.1462G>A heterozigot varyantı saptanmış, bu hastaların tanı TSH:12-81,6 arasında iken fT4 değeri sadece bir hastada mevcut olup 0,84 ng/dL, olarak bildirilmiş diğer vakaların fT4 düzeyi ve ultason bulguları verilmemiştir (129). Peters ve arkadaşlarının Birleşik Krallık'ta yaptığı bir çalışmada *DUOX2* c.1462G>A varyantı taşıyan olgular bildirilmiş, çalışmaya alınan tüm

DUOX2 varyantları için venöz TSH 25 mIU/L den büyük saptanmıştır (12). Narumi ve arkadaşlarının çalışmasında (124) ise, *DUOX2* c.1462G>A heterozigot varyantına sahip bir vakanın tanı anı TSH değeri 146 mu/L olup klinik takipleri hakkında veri yoktu. Tüm bu veriler, *DUOX2* c.1462G>A varyantının hafif- orta hipotroidi ile presente olup, transient olabileceğini desteklemektedir. Bizim hastamızın tanı TSH ve T4 değerleri mevcut değildi, ilaç gereksinimi 1,59 mcg/kg/gün idi. Hastanın tedavi kesimi denenmiş ama nüks etmiş olması nedeni ile çalışmaya alınmıştı. Literatür verileri de göz önüne alındığında, bu varyant hastalık etkeni olarak kabul edilmiştir.

Otuzbir numaralı hastamızda *DUOX2* c.422 A>G (D141G) homozigot varyantı mevcuttu. Homozigot *DUOX2* varyantlarında dishormonegezise bağlı hipotiroidi bildirilen vakalar mevcut (65) olup mevcut varyant in silico analizlerde VUS olarak bildirilmiştir. Literatürde bu varyanta sahip olguya rastlanmamış olup, hastamızda bu varyantın mevcut kliniği açıklayabileceği düşünüldü.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmaya alınma kriterlerini karşılayan konjenital hipotiroidili vakalardan yaptığımız çalışmamızda vakaların %52,5 inde varyant saptadık. Bunlardan 28 varyantın (varyant saptadıklarımızın %90,3 tüm çalışmaya göre oran %47,6) hastalık etkeni olabileceğini düşündük. Beş gende, daha önce bildirilmemiş toplam 8 adet yeni varyant raporladık. Bunlar şöyleydi;

1-*TSHR* için 4 yeni varyant (C.1954C>G, 276_270 del, 406_407 del, c.3 G>A)

2-*SLC26A4* için 1 yeni varyant (c.1102 G>A)

3-*TPO* için 1 yeni varyant (c.71 C>A)

4-*DUOX1* için 1 yeni varyant (c.3098 del)

5-*DUOX2* için 1 yeni varyant (c.422 A>G D141G) idi.

Çalışmamızın bazı kısıtlı ve güçlü noktaları vardır. İyi seçilmiş bir kohortun çalışmaya alınması ve klinik seyirlerinin de çalışmaya dahil edilmesi çalışmamızın güçlü yönünü oluşturmaktaydı.

Yeni raporlanan varyantlar için fonksiyon çalışması yapılamaması, her vakada aile segregasyonu yapılamaması, hasta yaşı ve uyumsuzluğu nedeni ile bazı hastalarda USG ile tiroid hacmi hesabı yapılamaması ve kohort sayımızın düşük olması, çalışmamızın kısıtlılıkları arasındaydı.

Dishormonegenetik konjenital hipotiroidi genetiği ve klinik seyirleri hakkındaki verilerimizi doğrulamak için daha büyük kohortlarda ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, genetik testler, KH'li hastalarda tanı, tedavi ve yönetim kararlarını değiştirebilir,

takiplerinde tedavi kesimi ya da devamı açısından öngörü oluşturabilir. Bu verilerin daha büyük hasta gruplarında doğrulanması gereklidir. Ayrıca çalışmamızda ilk kez açıklanan yeni varyantların patojenitesini doğrulamak için fonksiyonel çalışmalar yapılması da gereklidir.

KAYNAKÇA

1. Acar S, Gürsoy S, Arslan G, Nalbantoğlu Ö, Hazan F, Köprülü Ö, et al. Screening of 23 candidate genes by next-generation sequencing of patients with permanent congenital hypothyroidism: novel variants in TG, TSHR, DUOX2, FOXE1, and SLC26A7. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2022;1-14.
2. Sağlam H, Büyükuysal L, Köksal N, Ercan İ. Increased incidence of congenital hypothyroidism due to iodine deficiency. 2007.
3. Tamam M, Adalet I, Bakır B, Türkmen C, Darendeliler F, Baş F, et al. Diagnostic spectrum of congenital hypothyroidism in Turkish children. *Pediatrics International*. 2009;51(4):464-468.
4. Yordam N, Çalikoğlu AS, Hatun Ş, Kandemir N, Oğuz H, Tezic T, et al. Screening for congenital hypothyroidism in Turkey. *European journal of pediatrics*. 1995;154:614-616.
5. Ford G, LaFranchi SH. Screening for congenital hypothyroidism: a worldwide view of strategies. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2014;28(2):175-187.
6. Tarım O, Yordam N. Congenital hypothyroidism in Turkey: a retrospective evaluation of 1000 cases. *The Turkish journal of pediatrics*. 1992;34(4):197-202.
7. Oliver-Petit I, Edouard T, Jacques V, Bournez M, Cartault A, Grunenwald S, et al. Next-generation sequencing analysis reveals frequent familial origin and oligogenism in congenital hypothyroidism with dysmorphogenesis. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:657913.
8. Gillam MP, Kopp P. Genetic regulation of thyroid development. *Current opinion in pediatrics*. 2001;13(4):358-363.
9. Kara C, Günindi F, Yılmaz GC, Aydın M. Transient congenital hypothyroidism in Turkey: an analysis on frequency and natural course. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*. 2016;8(2):170.
10. Kwak MJ. Clinical genetics of defects in thyroid hormone synthesis. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*. 2018;23(4):169.
11. Shin JH, Kim HY, Kim YM, Lee H, Bae MH, Park KH, et al. Genetic evaluation of congenital hypothyroidism with gland in situ using targeted exome sequencing. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2021;51(1):73-81.
12. Peters C, Nicholas AK, Schoenmakers E, Lyons G, Langham S, Serra EG, et al. DUOX2/DUOX2 mutations frequently cause congenital hypothyroidism that evades detection on newborn screening in the United Kingdom. *Thyroid*. 2019;29(6):790-801.
13. Van Trotsenburg P, Stoupa A, Léger J, Rohrer T, Peters C, Fugazzola L, et al. Congenital Hypothyroidism: A 2020–2021 Consensus guidelines update—An ENDO-European reference network initiative endorsed by the European Society for Pediatric Endocrinology and the European Society for Endocrinology. *Thyroid*. 2021;31(3):387-419.
14. Hall J. Guyton ve Hall tıbbi fizyoloji (13. Baskı). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri. 2016.
15. EMİRZEOĞLU M, SANCAK R. Tiroit bezi anatomisi. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012;29(4S):273-275.
16. De Felice M, Di Lauro R. Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms. *Endocrine reviews*. 2004;25(5):722-746.
17. Larsen PR. , Thyroid physiology and diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders. *Williams textbook of endocrinology*. 2003.
18. Bizhanova A, Kopp P. The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology*. 2009;150(3):1084-1090.
19. Chiamolera MI, Wondisford FE. Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology*. 2009;150(3):1091-1106.
20. Organization WH. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination: a guide for programme managers. 2007.
21. De la Vieja A, Dohan O, Levy O, Carrasco N. Molecular analysis of the sodium/iodide symporter: impact on thyroid and extrathyroid pathophysiology. *Physiological reviews*. 2000;80(3):1083-1105.

22. García M, Fernández A, Moreno JC. Central hypothyroidism in children. *Paediatric Thyroidology*. 2014;26:79-107.
23. Moreno JC. Identification of novel genes involved in congenital hypothyroidism using serial analysis of gene expression. *Hormone Research in Paediatrics*. 2003;60(Suppl. 3):96-102.
24. Nicoletti A, Bal M, De Marco G, Baldazzi L, Agretti P, Menabo S, et al. Thyrotropin-stimulating hormone receptor gene analysis in pediatric patients with non-autoimmune subclinical hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(11):4187-4194.
25. Alzahrani AS, Baitei EY, Zou M, Shi Y. Metastatic follicular thyroid carcinoma arising from congenital goiter as a result of a novel splice donor site mutation in the thyroglobulin gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006;91(3):740-746.
26. Ordookhani A, Pearce E, Mirmiran P, Azizi F, Braverman L. Transient congenital hypothyroidism in an iodine-replete area is not related to parental consanguinity, mode of delivery, goitrogens, iodine exposure, or thyrotropin receptor autoantibodies. *Journal of endocrinological investigation*. 2008;31:29-34.
27. Peters C, Brooke I, Heales S, Ifederu A, Langham S, Hindmarsh P, et al. Defining the newborn blood spot screening reference interval for TSH: impact of ethnicity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016;101(9):3445-3449.
28. Persani L, Rurale G, de Filippis T, Galazzi E, Muzza M, Fugazzola L. Genetics and management of congenital hypothyroidism. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018;32(4):387-396.
29. Takser L, Mergler D, Baldwin M, de Grosbois S, Smargiassi A, Lafond J. Thyroid hormones in pregnancy in relation to environmental exposure to organochlorine compounds and mercury. *Environmental health perspectives*. 2005;113(8):1039-1045.
30. Schell LM, Gallo MV, Denham M, Ravenscroft J, DeCaprio AP, Carpenter DO. Relationship of thyroid hormone levels to levels of polychlorinated biphenyls, lead, p, p'-DDE, and other toxicants in Akwesasne Mohawk youth. *Environmental Health Perspectives*. 2008;116(6):806-813.
31. Turyk ME, Anderson HA, Freels S, Chatterton Jr R, Needham LL, Patterson Jr DG, et al. Associations of organochlorines with endogenous hormones in male Great Lakes fish consumers and nonconsumers. *Environmental research*. 2006;102(3):299-307.
32. Dallaire R, Muckle G, Dewailly É, Jacobson SW, Jacobson JL, Sandanger TM, et al. Thyroid hormone levels of pregnant inuit women and their infants exposed to environmental contaminants. *Environmental health perspectives*. 2009;117(6):1014-1020.
33. Langer P, Kočan A, Tajtáková M, Koška J, Rádiková Ž, Kšinantová L, et al. Increased thyroid volume, prevalence of thyroid antibodies and impaired fasting glucose in young adults from organochlorine cocktail polluted area: outcome of transgenerational transmission? *Chemosphere*. 2008;73(7):1145-1150.
34. Roberts HE, Moore CA, Fernhoff PM, Brown AL, Khoury MJ. Population study of congenital hypothyroidism and associated birth defects, Atlanta, 1979-1992. *American journal of medical genetics*. 1997;71(1):29-32.
35. LaFranchi S, Kirkland J, Garcia-Prats J, Hoppin A. Clinical features and detection of congenital hypothyroidism. *UpToDate Waltham, MA: UpToDate*. 2009.
36. Biebermann H, Schöneberg T, Krude H, Schultz Gn, Gudermann T, Grüters A. Mutations of the human thyrotropin receptor gene causing thyroid hypoplasia and persistent congenital hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997;82(10):3471-3480.
37. Tenenbaum-Rakover Y, Grasberger H, Mamasiri S, Ringkananont U, Montanelli L, Barkoff MS, et al. Loss-of-function mutations in the thyrotropin receptor gene as a major determinant of hyperthyrotropinemia in a consanguineous community. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(5):1706-1712.
38. Castanet M, Polak M, Bonaïti-Pellié C, Lyonnet S, Czernichow P, Léger J, et al. Nineteen years of national screening for congenital hypothyroidism: familial cases with thyroid dysgenesis suggest the involvement of genetic factors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001;86(5):2009-2014.

39. Bubuteishvili L, Garel C, Czernichow P, Léger J. Thyroid abnormalities by ultrasonography in neonates with congenital hypothyroidism. *The Journal of pediatrics*. 2003;143(6):759-64.
40. Castanet M, Lyonnet S, Bonaïti-Pellié C, Polak M, Czernichow P, Léger J. Familial forms of thyroid dysgenesis among infants with congenital hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(6):441-442.
41. Kopp P. Pendred's syndrome and genetic defects in thyroid hormone synthesis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2000;1:109-121.
42. Clifton-Bligh RJ, Wentworth JM, Heinz P, Crisp MS, John R, Lazarus JH, et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. *Nature genetics*. 1998;19(4):399-401.
43. Pohlenz J, Dumitrescu A, Zundel D, Martiné U, Schönberger W, Koo E, et al. Partial deficiency of thyroid transcription factor 1 produces predominantly neurological defects in humans and mice. *The Journal of clinical investigation*. 2002;109(4):469-473.
44. Krude H, Schütz B, Biebermann H, Von Moers A, Schnabel D, Neitzel H, et al. Choreoathetosis, hypothyroidism, and pulmonary alterations due to human NKX2-1 haploinsufficiency. *The Journal of clinical investigation*. 2002;109(4):475-480.
45. DURGUN Z, YAZICI C, İNAN AO. Tiroit Hormonları ve Hastalıkları. *Akdeniz Spor Bilimleri Dergisi*. 2019;2(1):28-40.
46. Lichti-Kaiser K, ZeRuth G, Kang HS, Vasanth S, Jetten AM. Gli-similar proteins: their mechanisms of action, physiological functions, and roles in disease. *Vitamins & Hormones*. 2012;88:141-171.
47. Bakker B, Kempers MJ, De Vijlder JJ, Van Tijn DA, Wiedijk BM, Van Bruggen M, et al. Dynamics of the plasma concentrations of TSH, FT4 and T3 following thyroxine supplementation in congenital hypothyroidism. *Clinical Endocrinology*. 2002;57(4):529-537.
48. Cherella CE, Wassner AJ. Congenital hypothyroidism: insights into pathogenesis and treatment. *International journal of pediatric endocrinology*. 2017;2017(1):11.
49. Teumer A, Chaker L, Groeneweg S, Li Y, Di Munno C, Barbieri C, et al. Genome-wide analyses identify a role for SLC17A4 and AADAT in thyroid hormone regulation. *Nature communications*. 2018;9(1):4455.
50. Yamaguchi T, Nakamura A, Nakayama K, Hishimura N, Morikawa S, Ishizu K, et al. Targeted next-generation sequencing for congenital hypothyroidism with positive neonatal TSH screening. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2020;105(8):e2825-e33.
51. Fernandez LP, Lopez-Marquez A, Santisteban P. Thyroid transcription factors in development, differentiation and disease. *Nature Reviews Endocrinology*. 2015;11(1):29-42.
52. Pasca di Magliano M, Di Lauro R, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97(24):13144-13149.
53. de Sanctis L, Corrias A, Romagnolo D, Di Palma T, Biava A, Borgarello G, et al. Familial PAX8 small deletion (c. 989_992delACCC) associated with extreme phenotype variability. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(11):5669-5674.
54. DEMİRCİ DK, AYDOĞAN HY, Gül N, TÜTÜNCÜ Y, ÖZTÜRK O, SATMAN İ. HNF1A Geni rs1169288 (A> C) Mutasyonunun MODY3 Üzerine Etkisinin Araştırılması. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*.1(1):21-32.
55. BARAN RT, AKÇURİN S, AKÇURİN G, MANGUOĞLU E, ÖZDEM S. Santral Tiroid Hormon Direnci Saptanan Olgularda Tiroid Hormon Reseptör Gen Analizi ve Periferik Direnç Eşliğinin Araştırılması. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*. 2020;14(1):72-79.
56. Rastogi MV, LaFranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet journal of rare diseases*. 2010;5(1):1-22.
57. Avbelj M, Tahirovic H, Debeljak M, Kusekova M, Toromanovic A, Krzisnik C, et al. High prevalence of thyroid peroxidase gene mutations in patients with thyroid dysmorphogenesis. *European Journal of Endocrinology*. 2007;156(5):511-519.
58. Endo T, Ohta K, Haraguchi K, Onaya T. Cloning and functional expression of a thyrotropin receptor cDNA from rat fat cells. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(18):10833-10837.

59. Abramowicz M, Targovnik H, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev MA, et al. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *The Journal of clinical investigation*. 1992;90(4):1200-1204.
60. NIEPOMNISZCZE H, DEGROOT LJ, HAGEN GA. Abnormal thyroid peroxidase causing iodide organification defect. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1972;34(4):607-616.
61. Rivolta CM, Esperante SA, Gruñeiro-Papendieck L, Chiesa A, Moya CM, Domené S, et al. Five novel inactivating mutations in the thyroid peroxidase gene responsible for congenital goiter and iodide organification defect. *Human mutation*. 2003;22(3):259.
62. Bakker B, Bikker H, Vulsma T, de Randamie JS, Wiedijk BM, de Vijlder JJ. Two decades of screening for congenital hypothyroidism in The Netherlands: TPO gene mutations in total iodide organification defects (an update). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000;85(10):3708-3712.
63. Avvedimento V, Di Lauro R, Monticelli A, Bernardi F, Patracchini P, Calzolari E, et al. Mapping of human thyroglobulin gene on the long arm of chromosome 8 by in situ hybridization. *Human genetics*. 1985;71:163-166.
64. Park S, Chatterjee V. Genetics of congenital hypothyroidism. *Journal of medical genetics*. 2005;42(5):379-389.
65. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJ, Van Trotsenburg AP, Baas F, de Vijlder JJ, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*. 2002;347(2):95-102.
66. Zamproni I, Grasberger H, Cortinovic F, Vigone MC, Chiumello G, Mora S, et al. Biallelic inactivation of the dual oxidase maturation factor 2 (DUOXA2) gene as a novel cause of congenital hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(2):605-610.
67. Smanik PA, Ryu K-Y, Theil KS, Mazzaferri EL, Jhiang SM. Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium iodide symporter. *Endocrinology*. 1997;138(8):3555-3558.
68. Dohán O, Portulano C, Basquin C, Reyna-Neyra A, Amzel LM, Carrasco N. The Na⁺/I⁻ symporter (NIS) mediates electroneutral active transport of the environmental pollutant perchlorate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(51):20250-20255.
69. Kosugi S, Sato Y, Matsuda A, Ohyama Y, Fujieda K, Inomata H, et al. High prevalence of T354P sodium/iodide symporter gene mutation in Japanese patients with iodide transport defect who have heterogeneous clinical pictures. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(11):4123-4129.
70. Fujiwara H, tatsumi K-I, Miki K, Harada T, Okada S, Nose O, et al. Recurrent T354P mutation of the Na⁺/I⁻ symporter in patients with iodide transport defect. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(8):2940-2943.
71. Kopp P, Schnyder S, Pesce L. Pendred's syndrome: deficiency in iodide transport. *The comprehensive handbook on iodide*: Elsevier, San Diego; 2009. p. 231-241.
72. Reardon W, Trembath R. Pendred syndrome. *Journal of medical genetics*. 1996;33(12):1037.
73. JG B, RH N. Deafness with sporadic goiter. Pendred's syndrome. *Archives of Otolaryngology (Chicago, Ill: 1960)*. 1962;76:401-406.
74. Masmoudi S, Charfedine I, Hmani M, Grati Mh, Ghorbel AM, Elgaied-Boulila A, et al. Pendred syndrome: phenotypic variability in two families carrying the same PDS missense mutation. *American journal of medical genetics*. 2000;90(1):38-44.
75. Czech-Kowalska J, Czekuc-Kryskiewicz E, Pludowski P, Zaniuk K, Jaworski M, Łuba A, et al. The clinical and biochemical predictors of bone mass in preterm infants. *PLoS One*. 2016;11(11):e0165727.
76. Rigo J, Nyamugabo K, Picaud JC, Gerard P, Pieltain C, De Curtis M. Reference values of body composition obtained by dual energy X-ray absorptiometry in preterm and term neonates. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 1998;27(2):184-190.

77. Figueras-Aloy J, Álvarez-Domínguez E, Pérez-Fernández JM, Moretones-Suñol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants. *The Journal of Pediatrics*. 2014;164(3):499-504.
78. Moreno JC, Klootwijk W, van Toor H, Pinto G, D'Alessandro M, Lèger A, et al. Mutations in the iodotyrosine deiodinase gene and hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*. 2008;358(17):1811-1818.
79. Ishii J, Suzuki A, Kimura T, Tateyama M, Tanaka T, Yazawa T, et al. Congenital goitrous hypothyroidism is caused by dysfunction of the iodide transporter SLC26A7. *Communications biology*. 2019;2(1):270.
80. Cangul H, Liao X-H, Schoenmakers E, Kero J, Barone S, Srichomkwun P, et al. Homozygous loss-of-function mutations in SLC26A7 cause goitrous congenital hypothyroidism. *JCI insight*. 2018;3(20).
81. Zou M, Alzahrani AS, Al-Odaib A, Alqahtani MA, Babiker O, Al-Rijjal RA, et al. Molecular analysis of congenital hypothyroidism in Saudi Arabia: SLC26A7 mutation is a novel defect in thyroid dysmorphogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018;103(5):1889-1898.
82. McGrath N, Hawkes CP, Mayne P, Murphy NP. Optimal timing of repeat newborn screening for congenital hypothyroidism in preterm infants to detect delayed thyroid-stimulating hormone elevation. *The Journal of Pediatrics*. 2019;205:77-82.
83. Hinton CF, Harris KB, Borgfeld L, Drummond-Borg M, Eaton R, Lorey F, et al. Trends in incidence rates of congenital hypothyroidism related to select demographic factors: data from the United States, California, Massachusetts, New York, and Texas. *Pediatrics*. 2010;125(Supplement_2):S37-S47.
84. Parks JS, Lin M, Grosse SD, Hinton CF, Drummond-Borg M, Borgfeld L, et al. The impact of transient hypothyroidism on the increasing rate of congenital hypothyroidism in the United States. *Pediatrics*. 2010;125(Supplement_2):S54-S63.
85. Bhavani N. Transient congenital hypothyroidism. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2011;15(Suppl2):S117-S20.
86. Yang R-l, Zhu Z-w, Zhou X-l, Zhao Z-y. Treatment and follow-up of children with transient congenital hypothyroidism. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2005;6:1206-1209.
87. Zung A, Tenenbaum-Rakover Y, Barkan S, Hanukoglu A, Hershkovitz E, Pinhas-Hamiel O, et al. Neonatal hyperthyrotropinemia: population characteristics, diagnosis, management and outcome after cessation of therapy. *Clinical endocrinology*. 2010;72(2):264-271.
88. van Trotsenburg AP. Management of neonates born to mothers with thyroid dysfunction, and points for attention during pregnancy. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2020;34(4):101437.
89. Bessho K, Etani Y, Ichimori H, Miyoshi Y, Namba N, Yoneda A, et al. Increased type 3 iodothyronine deiodinase activity in a regrown hepatic hemangioma with consumptive hypothyroidism. *European journal of pediatrics*. 2010;169:215-221.
90. Büyükgebiz A. Newborn screening for congenital hypothyroidism. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*. 2013;5(Suppl 1):8.
91. Rose S, Brown R, Foley T, Kaplowitz P, Kaye C, Sundararajan S. American Academy of Pediatrics; Section on Endocrinology and Committee on Genetics, American Thyroid Association; Public Health Committee, Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics*. 2006;117(6):2290-2303.
92. Vulsmas T, Gons MH, de Vijlder JJ. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *New England Journal of Medicine*. 1989;321(1):13-16.
93. Dunger DB, Sperling MA, Acerini CL, Bohn DJ, Daneman D, Danne TP, et al. European Society for Paediatric Endocrinology/Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society consensus statement on diabetic ketoacidosis in children and adolescents. *Pediatrics*. 2004;113(2):e133-e140.
94. Keller-Petrot I, Leger J, Sergent-Alaoui A, de Labriolle-Vaylet C, editors. Congenital hypothyroidism: role of nuclear medicine. *Seminars in nuclear medicine*; 2017: Elsevier.

95. Graber E, Regelman MO, Annunziato R, Machac J, Rapaport R. The role of 123I imaging in the evaluation of infants with mild congenital hypothyroidism. *Hormone Research in Paediatrics*. 2015;83(2):94-101.
96. Ohnishi H, Sato H, Noda H, Inomata H, Sasaki N. Color Doppler ultrasonography: diagnosis of ectopic thyroid gland in patients with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(11):5145-5149.
97. Citterio CE, Targovnik HM, Arvan P. The role of thyroglobulin in thyroid hormonogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019;15(6):323-338.
98. Dunn JT, Crutchfield HE, Gutekunst R, DUNN AD. Two simple methods for measuring iodine in urine. *Thyroid*. 1993;3(2):119-123.
99. Ristic-Medic D, Piskackova Z, Hooper L, Ruprich J, Casgrain A, Ashton K, et al. Methods of assessment of iodine status in humans: a systematic review. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;89(6):2052S-69S.
100. Jooste PL, Strydom E. Methods for determination of iodine in urine and salt. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;24(1):77-88.
101. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*. 2015;17(5):405-423.
102. Cassio A, Nicoletti A, Rizzello A, Zazzetta E, Bal M, Baldazzi L. Current loss-of-function mutations in the thyrotropin receptor gene: when to investigate, clinical effects, and treatment. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*. 2013;5(Suppl 1):29.
103. Schoenmakers N, Chatterjee VK. TSHR mutations and subclinical congenital hypothyroidism. *Nature Reviews Endocrinology*. 2015;11(5):258-259.
104. Tenenbaum-Rakover Y, Almashanu S, Hess O, Admoni O, Hag-Dahood Mahameed A, Schwartz N, et al. Long-term outcome of loss-of-function mutations in thyrotropin receptor gene. *Thyroid*. 2015;25(3):292-299.
105. Connelly KJ, LaFranchi SH. Detection of neonates with mild congenital hypothyroidism (primary) or isolated hyperthyrotropinemia: an increasingly common management dilemma. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*. 2014;9(3):263-271.
106. Stoupa A, Al Hage Chehade G, Chaabane R, Kariyawasam D, Szinnai G, Hanein S, et al. High diagnostic yield of targeted next-generation sequencing in a cohort of patients with congenital hypothyroidism due to dysmorphogenesis. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;11:545339.
107. Huang M, Lu X, Dong G, Li J, Chen C, Yu Q, et al. Analysis of mutation spectra of 28 pathogenic genes associated with congenital hypothyroidism in the Chinese Han population. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:695426.
108. Fu C, Luo S, Zhang S, Wang J, Zheng H, Yang Q, et al. Next-generation sequencing analysis of DUOX2 in 192 Chinese subclinical congenital hypothyroidism (SCH) and CH patients. *Clinica Chimica Acta*. 2016;458:30-34.
109. Wang H, Kong X, Pei Y, Cui X, Zhu Y, He Z, et al. Mutation spectrum analysis of 29 causative genes in 43 Chinese patients with congenital hypothyroidism. *Molecular medicine reports*. 2020;22(1):297-309.
110. Zhang C-R, Shi Y-P, Zhang C-X, Sun F, Zhu W-J, Zhang R-J, et al. Mutation screening and functional study of slc26a4 in Chinese patients with congenital hypothyroidism. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2022;14(1):46.
111. Nicholas AK, Serra EG, Cangul H, Alyaarubi S, Ullah I, Schoenmakers E, et al. Comprehensive screening of eight known causative genes in congenital hypothyroidism with gland-in-situ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016;101(12):4521-4531.
112. Cangül H, Doğan M, Sağlam Y, Kendall M, Boelaert K, Barrett TG, et al. One base deletion (c. 2422delT) in the TPO gene causes severe congenital hypothyroidism. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*. 2014;6(3):169.

113. Kara C, Mammadova J, Abur Ü, Gumuskaptan C, Güllü Eİ, Dağdemir A, et al. Genetic testing can change diagnosis and treatment in children with congenital hypothyroidism. *European Thyroid Journal*. 2023;12(3).
114. Narumi S, Muroya K, Abe Y, Yasui M, Asakura Y, Adachi M, et al. TSHR mutations as a cause of congenital hypothyroidism in Japan: a population-based genetic epidemiology study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(4):1317-1323.
115. Cerbone M, Agretti P, De Marco G, Improda N, Pignata C, Santamaria F, et al. Non-autoimmune subclinical hypothyroidism due to a mutation in TSH receptor: report on two brothers. *Italian Journal of Pediatrics*. 2013;39:1-5.
116. Da D-Z, Wang Y, Wang M, Long Z, Wang Q, Liu J. Congenital hypothyroidism patients with thyroid hormone receptor variants are not rare: A systematic review. *INQUIRY: The Journal of Health Care Organization, Provision, and Financing*. 2021;58:00469580211067943.
117. Cangül H, Doğan M, Üstek D. A homozygous nonsense thyroid peroxidase mutation (R540X) consistently causes congenital hypothyroidism in two siblings born to a consanguineous family. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2015;7(4):323.
118. Chang W-C, Liao C-Y, Chen W-C, Fan Y-C, Chiu S-J, Kuo H-C, et al. R450H TSH receptor mutation in congenital hypothyroidism in Taiwanese children. *Clinica chimica acta*. 2012;413(11-12):1004-1007.
119. Kanda K, Mizuno H, Sugiyama Y, Imamine H, Togari H, Onigata K. Clinical significance of heterozygous carriers associated with compensated hypothyroidism in R450H, a common inactivating mutation of the thyrotropin receptor gene in Japanese. *Endocrine*. 2006;30:383-388.
120. Sunthornthepvarakul T, Gottschalk ME, Hayashi Y, Refetoff S. Resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *New England Journal of Medicine*. 1995;332(3):155-160.
121. De Roux N, Misrahi M, Brauner R, Houang M, Carel J, Granier M, et al. Four families with loss of function mutations of the thyrotropin receptor. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1996;81(12):4229-4235.
122. Kosugi S, Matsuda A, Hai N, Aoki N, Sugawa H, Mori T. Aspartate-474 in the first exoplasmic loop of the thyrotropin receptor is crucial for receptor activation. *FEBS letters*. 1997;406(1-2):139-141.
123. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *The Journal of clinical investigation*. 1997;99(12):3018-3024.
124. Yoshizawa-Ogasawara A, Ogikubo S, Satoh M, Narumi S, Hasegawa T. Congenital hypothyroidism caused by a novel mutation of the dual oxidase 2 (DUOX2) gene. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2013;26(1-2):45-52.
125. Sayeb M, Riahi Z, Laroussi N, Bonnet C, Romdhane L, Mkaouar R, et al. A Tunisian family with a novel mutation in the gene CYP 4F22 for lamellar ichthyosis and co-occurrence of hearing loss in a child due to mutation in the SLC 26A4 gene. *International Journal of Dermatology*. 2019;58(12):1439-1443.
126. Jonard L, Niasme-Grare M, Bonnet C, Feldmann D, Rouillon I, Loundon N, et al. Screening of SLC26A4, FOXI1 and KCNJ10 genes in unilateral hearing impairment with ipsilateral enlarged vestibular aqueduct. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2010;74(9):1049-1053.
127. Makretskaya N, Bezlepina O, Kolodkina A, Kiyayev A, Vasilyev EV, Petrov V, et al. High frequency of mutations in 'dys-hormonogenesis genes' in severe congenital hypothyroidism. *PloS one*. 2018;13(9):e0204323.
128. Jin HY, Heo S-H, Kim Y-M, Kim G-H, Choi J-H, Lee B-H, et al. High frequency of DUOX2 mutations in transient or permanent congenital hypothyroidism with eutopic thyroid glands. *Hormone research in paediatrics*. 2014;82(4):252-260.
129. Park K-J, Park H-K, Kim Y-J, Lee K-R, Park J-H, Park J-H, et al. DUOX2 mutations are frequently associated with congenital hypothyroidism in the Korean population. *Annals of Laboratory Medicine*. 2016;36(2):145.



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : E-60116787-020-155552
Konu : Başvurunuz Hk.

Sayın Doç. Dr. Selda Ayça ALTINCIK

İlgi : 04/01/2022 tarihli dilekçeniz. *192.168.173.10*
90068

İlgi dilekçe ile başvurmuş olduğunuz *14.01.2022* "**Dishormonogenezli Konjenital Hipotirodi Hastalarında Yeni Nesil Dizi Analizi ile Genetik Etiyoloji Değerlendirilmesi**" konulu çalışmanızda istenilen değişiklik talebiniz **11.01.2021 tarih ve 01 sayılı** kurul toplantımızda görüşülmüş olup,

Yapılan görüşmelerden sonra; **söz konusu çalışmanın genetik araştırma olması sebebi ile Doç. Dr. Gökhan Ozan ÇETİN'in** de çalışmada isminin yer almasında **ETİK AÇIDAN SAKINCA OLMADIĞINA**, altı ayda bir çalışma hakkında Kurulumuza bilgi verilmesine oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Tahir TURAN
Başkan